OATAO
Open Archive Toulouse Archive Ouverte

Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)
OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : http://oatao.univ-toulouse.fr/
Eprints ID : 4180

To cite this version :
PELISSIER, Isabelle. *Électrocardiographie haute-résolution : étude des effets pro-arythmiques de la terfenadine chez le miniporc sain* .
Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Toulouse 3, 2009, 146 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE TOULOUSE

ANNEE 2009 THESE : 09 – TOU 3 – 4110

ELECTROCARDIOGRAPHIE HAUTE-RESOLUTION : *ETUDE DES EFFETS PRO-ARYTHMIQUES DE LA TERFENADINE CHEZ LE MINIPORC SAIN.*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2009
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Isabelle, Marie, Anne PELISSIER
Née le 20 février 1984, à la Seyne/mer (83)

Directeur de thèse : M. le Professeur Hervé LEFEBVRE

JURY

PRESIDENT :
M. Michel GALINIER Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :
M. Hervé LEFEBVRE Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
M. Guy-Pierre MARTINEAU Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE DE L'ALIMENTATION DE LA PÊCHE ET DES AFFAIRES RURALES

À notre jury de thèse

À Monsieur le Professeur Michel Galinier
Chef de Service au Centre Hospitalier Universitaire de Rangueil
Service de Cardiologie
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse
Hommages respectueux.

À Monsieur le Professeur Hervé Lefebvre
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physiologie et Thérapeutique
Qui a accepté de diriger ce travail, qui a su nous conseiller avec rigueur et efficacité
Sincères remerciements.

À Monsieur le Professeur Guy-Pierre Martineau
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour
Qui a accepté de faire partie de ce jury de thèse,
Sincères remerciements.

Au laboratoire Sanofi-Aventis qui nous a permis de réaliser ce travail.

À Monsieur Philippe Detilleux
Direction site Paris de la DSE
Qui nous a accueillie au sein de son département et nous a permis de réaliser ce travail dans des conditions privilégiées.
Hommages respectueux.

À Madame Patricia Lafouge
Responsable du groupe opérations
Pour son accueil au sein de son groupe, pour sa gentillesse et l'intérêt porté à notre travail.
Sincères remerciements.

À Monsieur Nigel Roome
Conseiller scientifique, Global Drug Safety Evaluation,
Pour son accueil, sa gentillesse et sa bonne humeur.
Sincères remerciements.

À Monsieur Gérard Saint-Macary
Responsable de l'unité de diagnostic clinique
Qui a initié ce projet il y a quelques années déjà et qui l'a mené avec beaucoup de persévérance, de conviction et d'enthousiasme. Pour sa pédagogie et sa sympathie.
Que ce travail lui témoigne notre profond respect et notre sincère amitié.

À Monsieur Bernard Bozec
Biologiste Toxicologue
Pour son aide efficace et spontanée, sa disponibilité et sa sympathie.
Sincères remerciements.

À Monsieur Emmanuel Pham
Biostatisticien
Pour le temps consacré à nous traduire les subtilités de son art en langage courant, et surtout à nous les faire comprendre.
Sincères remerciements.

À Monsieur Jean-Sylvain Beaufils
Responsable de l'Unité de Pathologie Clinique
Pour ses talents d'apothicaire et pour le temps consacré à ce travail.
Sincères remerciements.

À Monsieur Jean-Yves Levrien
Biologiste Toxicologue
Pour ses compétences et son aide toujours un peu bougonne mais tellement sympathique.
Sincères remerciements.

À toutes les personnes ayant de près ou de loin contribué à la réalisation de notre travail.
À tous les membres du site de Porcheville dont l'accueil a rendu ces huit mois très agréables.
Sincères remerciements.

À ma famille,

À **mes parents**,
Que ce travail soit le reflet de toute l'admiration, de toute la reconnaissance et de tout l'amour que je vous porte. Merci d'avoir mené cette famille comme vous l'avez fait, et de nous avoir emmené là où on en est maintenant…. Je vous dédie ce travail.

À **mes grands parents**,
Paternels, merci pour votre énergie et votre joie de vivre… que tout cela dure encore longtemps.
Maternels, de là où vous êtes, vous serez toujours présents dans les moments important de ma vie… Merci.

À mes frères et sœurs,
Cécile et **David**, qui m'avez accueillie dans votre Normandie, qui m'avez fait visiter la vallée d'Eure et participer à votre installation à la Forêt… merci d'avoir supporté la « petite » pendant ces huit mois…

À **Laurent**, **Magali** et leurs merveilleux enfants, **Arthur** et **Marie**,
Merci Magali pour tes conseils, ta présence et ton soutien, surtout dans les moments difficiles…

À **Loïc** et **Stéphanie**,
Merci mon frère et parrain pour tous tes conseils avisés, prodigués dans la joie et (presque) toujours dans la bonne humeur…

À **Clémence** et **Romain**, les derniers arrivés dans la famille… Ma lenteur dans la rédaction et la correction de cette thèse explique le fait que vous n'arriviez qu'après tout le monde dans la rubrique remerciements: vous ne m'avez certes pas accompagnée lors de la réalisation de ce travail, car au moment où j'en ai entamé la rédaction, vous n'existiez que dans l'esprit de vos parents… Mais maintenant, vous êtes là pour le plus grand bonheur de tout le monde… surtout de vos parents … Merci à vous, vous êtes la relève de la famille…. Romain, je compte sur toi pour perpétuer la tradition des « Pélissier râleurs » (personne n'a jamais cru que ça « sautait une génération »).

*À **Julien***,
Pour ces 5 années de bonheur que nous avons déjà partagé, pour cette vie que nous sommes en train de construire...les bases, quoiqu'un peu « éloignées » pour l'instant, n'en sont pas moins solides… Merci.

À mes amis,

Laurianne, merci pour cette amitié qui est la nôtre depuis cette difficile année à Marseille, pour ta gaieté, ta bonne humeur et ton enthousiasme permanents…

Les sanaryens, **Emilie**, **Bouba** et leur fils **Arthur**, **Diane** et **Manu**, **Antonin** et tous les autres avec qui j'ai passé de supers moments au Caba, aux différents réveillons, aux différentes soirées d'été… Je ne doute pas que cela durera malgré l'éloignement.

Les toulousains de ma « vraie » promo

À mes ex colloc', **Amande** et **Krekre**
Certes quelques moments difficiles, mais qui n'entâchent pas les bons souvenirs de ces deux ans passés avec vous…

À l'ex Joe Bar, tous les moments privilégiés passés ensemble ont permis de construire l'amitié qui est la nôtre aujourd'hui… Merci à vous, et que le meilleur reste à venir….
Claudie, pour ta tête en l'air, pour ton côté possessif et cleptomane arrivé à un certain stade de soirée, pour les voyages, les raids et pour tous ces jours qui ont été les pires de ta vie….
Pauline, pour être originale, je vais remercier celle qui a été, durant ces années d'école, la maman de la promo… mais surtout la maman de tes amis… merci
Yann, pour tous les débats qui ont animé pas mal de trajets en voiture, pour tes opinions tranchées et parce que tu sais écouter et conseiller justement dans les situations difficiles…
Gus, j'espère que tes doutes vont s'estomper peu à peu et que tu réussiras à trouver la voie qui te rendra vraiment heureux…

À mes amies qui ont été mes « supérieures hiérarchiques » pendant un an,
Aurélie, pour toutes ces recettes de gâteaux partagées, **Charlotte**, pour ta délicatesse et ta féminité… ne change pas, t'es géniale… j'ai adoré être la petite « red »…

Aux viragirls,
Marie, parce que tu es présente en toutes circonstances, que tu sais écouter et conseiller très justement… merci
Hélène, **Camille**, **Julie**, **Géraldine**, mes colloc's… Pour nos soirées viragirls, les repas de Noël à la maison, les petits soucis de barbecue, les soirées d'anniversaire, les poissons rouges… bref, pour tous ces excellents souvenirs en votre compagnie….

À **Mathilde**, **Flo**, **Caro**, **Elodie**, **Delphine**… jolie bande de Grognasses... pour les raids partagés avec les unes (Mathilde, n'oublie pas amazone des trente ans…), pour les soirées pyjama-nutella avec les autres, les repas gastronomiques… et j'en passe.

Au groupe 10 forever les meilleurs : **Ramo**, **Chtit' Maud**, **Clément**, **Nico**, **Seb**, **Chacha**, **Gus**…

Et à **Sophie**, **Marie-Anne**, **Thomach'**, **Laurent**, **GG, Marc**, **Flunchy**, **GP** et ceux que j'oublie… bref tous les copains de promo…

À **Jean François Laborde**, notre parrain.

À ma promo d'adoption,
Aude, **Brice**, **Bouss**, **Foufoune**, **Marie**, **Guillaume**, **Mickaël**, **Taquet**, **Mado**, **Walou**, **Fanny**, **Ronsard**, **Léni**, **Majida**,… Merci pour l'accueil fait à la petite « red »…

À **Pimpin**, le poulot, merci pour ton enthousiasme, ta bonne humeur et ta générosité.

À la **famille Leconte**,
Merci pour votre gentillesse et votre accueil lors de mes huit mois en Normandie

À toute l'équipe de la Clinique Vétérinaire de la Porte d'Aspe… pour tous les conseils avisés du Professeur Bellocq, et pour m'avoir permis de commencer dans le métier dans des conditions privilégiées…Merci.

Et aux oubliés…… désolée !

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS ---- **13**
TABLE DES ILLUSTRATIONS ---- **14**
INTRODUCTION ---- **19**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Définition, historique, premières observations et premiers enregistrements ---- **24**
II- Principe de fonctionnement ---- **25**
II.1- Acquisition et traitement des données ---- 25
II.1.1- Recueil des signaux électriques : le système de dérivations orthogonales ---- 25
II.1.2- Amplification et pré-filtrage ---- 26
II.1.3- Numérisation du signal ---- 26
II.1.4- Sommation et moyennage ---- 28
II.1.4.1- Intérêt ---- 28
II.1.4.2- Principe ---- 29
II.2- Analyse du signal moyenné et amplifié ---- 30
II.2.1- Analyse temporelle ---- 30
II.2.1.1- Filtrage bidirectionnel ---- 30
II.2.1.2- Analyse du vecteur amplitude ---- 31
II.2.2- Autres méthodes d'analyse ---- 34
II.2.3- Critères de présence des potentiels ventriculaires tardifs ---- 35
III- Les potentiels ventriculaires tardifs : utilisation pratique ---- **37**
III.1- Signification électrophysiologique des potentiels ventriculaires tardifs ---- 37
III.1.1- Relations entre potentiels ventriculaires tardifs et arythmie ventriculaire par ré-entrée ---- 37
III.1.2- Corrélations histopathologiques ---- 39
III.2- Applications cliniques ---- 40
III.2.1- Suivi des patients après un infarctus du myocarde ---- 40
III.2.1.1- Incidence des potentiels ventriculaires tardifs après un infarctus du myocarde ---- 40
III.2.1.2- Valeur pronostique ---- 41
III.2.1.3- Prédiction des résultats de la stimulation ventriculaire programmée ---- 42

III.2.1.4- Evaluation de la reperméabilisation artérielle par mise en place d'un traitement thrombolytique ---- 43
III.2.2- Potentiels ventriculaires tardifs et thérapeutique cardiaque ---- 44
III.2.2.1- Potentiels ventriculaires tardifs et traitements médicaux ---- 44
III.2.2.2- Potentiels ventriculaires tardifs et traitements chirurgicaux ---- 45
IV- Pharmacologie et cardiotoxicité de la terfénadine ---- 46
IV.1- Données pharmacologiques ---- 46
IV.2- Cardiotoxicité de la terfénadine ---- 48

PARTIE EXPERIMENTALE

I- Matériels et méthodes ---- 55
I.1- Animaux ---- 55
I.1.1- Intérêt de l'utilisation du miniporc ---- 55
I.1.2- Origine, caractéristiques et conditions d'entretien ---- 55
I.1.3- Préparation de l'animal ---- 56
I.1.3.1- Contention mécanique ---- 56
I.1.3.2- Contention chimique ---- 57
I.1.3.3- Mise en place des électrodes ---- 58
I.1.3.4- Mise en place du cathéter intraveineux ---- 59
I.2- Terfénadine ---- 59
I.2.1- Mise en solution de la terfénadine ---- 59
I.2.2- Administration de la terfénadine ---- 60
I.3- Appareils et méthode de recueil des signaux électrocardiographiques ---- 62
I.3.1- Recueils d'électrocardiographie standard ---- 62
I.3.2- Recueils d'électrocardiographie haute-résolution ---- 63
I.3.2.1- L'appareil ---- 63
I.3.2.2- Obtention d'un signal moyenné et filtré ---- 64
I.3.2.3- Analyse et impression du rapport ---- 66
I.4- Analyses statistiques des données ---- 67
I.4.1- Variabilité du modèle évaluée sur les pré-tests ---- 67
I.4.2- Détermination des limites de valeurs normales pour chaque animal ---- 68
I.4.3- Tests avec administration de terfénadine ---- 68
I.4.3.1- Evaluation de l'effet de la dose de terfénadine ---- 68

I.4.3.2- Effet de la terfénadine sur les variables d'électrocardiographie haute-résolution de chaque animal et sur chacun de ses tests ---------- 70
I.4.4- Evaluation de l'effet de la durée de l'anesthésie dans l'étude complémentaire --- 70
II- Etude préliminaire : mise au point de la technique et choix de la dose de terfénadine ---------- 71
II.1- Objectifs de l'étude ---------- 71
II.2- Protocole expérimental ---------- 71
II.3- Résultats et choix de dose ---------- 72
III- Etude principale ---------- 82
III.1- Recueils d'électrocardiographie haute-résolution pendant l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de terfénadine sur 20 minutes ---------- 82
III.1.1- Calendrier et protocole d'étude ---------- 82
III.1.2- Résultats ---------- 85
III.1.2.1- Pré-test ---------- 85
III.1.2.2- Recueils d'électrocardiographie haute-résolution pendant et après administration de la terfénadine ---------- 86
- Evaluation de l'effet dose de la terfénadine ---------- 86
- Evolution dynamique individuelle ---------- 93

III.1.2.3- Evaluation de l'effet de l'administration de terfénadine sur les variables d'électrocardiographie standard ---------- 94
III.2- Evaluation des effets de la durée de l'anesthésie à l'isoflurane sur les variables d'électrocardiographie haute-resolution et d'électrocardiographie standard ---------- 96
III.2.1- But de l'expérience ---------- 96
III.2.2- Protocole expérimental ---------- 96
III.2.3- Evaluation de l'effet de la durée de l'anesthésie sur les variables d'électrocardiographie haute-résolution ---------- 97
III.2.4- Evolution des variables d'electrocardiographie lors de l'anesthésie à l'isoflurane ---------- 102
IV- Discussion ---------- 105
IV.1- Pré-tests : étude de la variabilité des différentes variables et définition des potentiels ventriculaires tardifs ---------- 105
IV.2- Sensibilité et spécificité ---------- 106

IV.3- Signification de l'apparition des potentiels ventriculaires tardifs pendant l'administration de la terfénadine---------- 107
IV.4- Intérêt de l'utilisation de l'élctrocardiographie haute-résolution par rapport à l'utilisation de l'électrocardiographie standard dans l'évaluation du potentiel pro-arythmique des molécules en développement---------- 108
CONCLUSION---------- 111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ---------- 115
ANNEXES ---------- 125

LISTE DES ABREVIATIONS

BPM : Battements par minute

CEPAL : Comité d'Ethique Pour l'Animal de Laboratoire

CMD : Cardiomyopathie dilatée

CYP 3A4 : Cytochrome P 450 3A4

DVDA : Dysplasie du ventricule droit arythmogène

ECG : Electrocardiographie

ECG HR : Electrocardiographie haute-résolution

Hz : Hertz

IKr : Canaux potassiques (composante rapide)

IM : Infarctus du myocarde

IV : Intraveineuse

LAS 30 : Low Amplitude Signal : Durée de la portion terminale du QRS filtré dont l'amplitude est inférieure à 30 microvolts

LAS 40 : Low Amplitude Signal : Durée de la portion terminale du QRS filtré dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts

mg : Milligrammes

ms : Millisecondes

MSC : Mort subite cardiaque

µv : Microvolts

PVT : Potentiels ventriculaires tardifs

QRSf : Durée totale du complexe QRS filtré

QTcF : Intervalle QT corrigé par la formule de Fredericia (= QT / $RR^{1/3}$)

RMS : Root Mean Square Voltage : amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré

RMS 30 : Root Mean Square Voltage : amplitude quadratique moyenne des 30 dernières millisecondes du complexe QRS filtré

RMS 40 : Root Mean Square Voltage : amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré

SVP : Stimulation ventriculaire programmée

TV : Tachycardie ventriculaire

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

Tableau 1 : Critères de présence de potentiels ventriculaires tardifs dans différents domaines d'application avec utilisation de différentes valeurs de filtres passe-haut 36

Tableau 2: Incidence d'accidents arythmiques chez les patients présentant (PVT +) et ne présentant pas (PVT -) de potentiels ventriculaires tardifs 41

Tableau 3 : Exemples d'application de l'électrocardiographie haute-résolution dans la prédiction de résultats de différentes chirurgies cardiaques 45

Tableau 4 : Emplacement des électrodes pour l'enregistrement ECG HR chez le miniporc 58

Tableau 5 : Variations des variables ECG HR enregistrées chez deux animaux au cours de l'administration de 7 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes 76

Tableau 6 : Evolution des moyennes des valeurs des variables ECG au cours de l'administration de 5 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes chez trois animaux 77

Tableau 7 : Evolution des moyennes des valeurs des variables ECG HR au cours de l'administration de 5 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes chez quatre animaux 77

Tableau 8 : Variations des variables ECG pour les deux animaux lors de l'administration de la dose de 4 mg/kg de terfénadine en 20 et 30 minutes 79

Tableau 9 : Variations des variables ECG HR pour les deux animaux lors de l'administration de la dose de 4 mg/kg de terfénadine en 20 et 30 minutes 80

Tableau 10: Correspondance entre le temps d'enregistrement, le numéro d'enregistrement et la dose de terfénadine administrée avant, pendant et après l'administration de la terfénadine 83

Tableau 11: Calendrier de l'étude principale 84

Tableau 12 : Valeurs des différents coefficients de variations des quatre variables ECG HR 85

Tableau 13: Valeurs des écarts-types des quatre variables ECG HR prenant en compte les variations intra-individuelle et inter-semaine 86

Tableau 14 : Différences entre les valeurs moyennes et la valeur de référence de la variable QRSf pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux 89

Tableau 15 : Différences entre les valeurs moyennes et la valeur de référence de la variable LAS 40 pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux 90

Tableau 16 : Différences entre les valeurs moyennes et la valeur de référence de la variable RMS pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux 91

Tableau 17 : Différences entre les valeurs moyennes et la valeur de référence de la variable RMS 40 pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux 92

Tableau 18: Temps d'enregistrement où des potentiels ventriculaires tardifs étaient présents pour chaque animal et pour chacun de ses tests pendant l'administration de 3 mg/kg de terfénadine et pendant la période de récupération 94

Tableau 19 : Variations des valeurs des variables ECG entre les enregistrements sur animaux vigiles et les enregistrements après administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes sur les trois tests sur les 8 animaux 95

Tableau 20 : Différences entre les valeurs moyennes enregistrées toutes les 10 minutes pendant les 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence de la variable LAS 40 pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée 98

Tableau 21 : Différences entre les valeurs moyennes enregistrées toutes les 10 minutes pendant les 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence de la variable QRSf pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée 99

Tableau 22 : Différences entre les valeurs moyennes enregistrées toutes les 10 minutes pendant les 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence de la variable RMS pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée 100

Tableau 23 : Différences entre les valeurs moyennes enregistrées toutes les 10 minutes pendant les 145 minutes d'anesthésie gaseuze à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence de la variable RMS40 pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée 101

Tableau 24 : Moyenne des valeurs des différentes variables ECG sur animaux vigiles et au cours des 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane, enregistrées sur les 8 miniporcs 103

FIGURES

Figure 1 : Système de dérivations orthogonales : emplacement des électrodes chez l'homme ---------- 25

Figure 2 : Principe général du système d'acquisition et d'analyse des données de l'électrocardiographie haute-résolution ---------- 27

Figures 3a et 3b : Représentation graphique des variables mesurées en analyse temporelle sur le complexe moyenné et filtré ---------- 32

Figures 4a et 4b : Exemples de rapports d'analyse, montrant le vecteur amplitude avec (figure 4a) et sans (figure 4b) potentiels ventriculaires tardifs ---------- 33

Figure 5 : Principe général de la ré-entrée ---------- 38

Figure 6 : Structure chimique de la terfénadine et de son métabolite actif, la fexofénadine ---------- 47

Figure 7 : Torsades de pointes sur les dérivations D1, D2 et D3 ---------- 49

Figure 8 : Relation entre le potentiel d'action myocardique et l'électrocardiogramme ---- 51
Figure 9 : Illustration des emplacements des électrodes pour l'enregistrement ECG HR chez le miniporc ---- 59
Figure 10 : Choix du complexe de référence ---- 65
Figure 11 : Evolution morphologique de l'ECG (D2) d'un animal représentatif pendant l'administration intraveineuse de terfénadine à la dose de 7 mg/kg sur une période de 30 minutes ---- 74
Figure 12 : Visualisation des décalages du segment ST sur l'ECG (D2) provoqués par l'administration intraveineuse de terfénadine à une dose de 7 mg/kg sur une période de 30 minutes ---- 75
Figure 13 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne de la variable LAS40 en fonction du numéro d'enregistrement ---- 87
Figure 14 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne de la variable QRSf en fonction du numéro d'enregistrement ---- 87
Figure 15 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne de la variable RMS en fonction du numéro d'enregistrement ---- 88
Figure 16 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne de la variable RMS40 en fonction du numéro d'enregistrement ---- 88
Figure 17 : Evolution des moyennes des différentes variables ECG pendant 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane sur les 8 miniporcs ---- 104

PHOTOGRAPHIES

Photo 1 : Organisation de l'espace de travail pour les enregistrements d'ECG HR et d'ECG lors de l'administration intraveineuse de la terfénadine ---- 61
Photo 2 : Affichage des trois dérivations ECG sur l'écran de l'ordinateur équipé du module d'acquisition IOX ---- 63

INTRODUCTION

L'enregistrement à la surface du thorax de potentiels ventriculaires tardifs (PVT) à l'aide d'un système d'électrocardiographie haute-résolution (ECG HR) est une technique qui s'est développée et standardisée à partir de la découverte de ces phénomènes électriques à la fin des années 70 : les PVT sont les témoins d'une activité électrique ventriculaire fragmentée et retardée.

La méthode d'ECG HR, peu invasive, trouve son application en médecine humaine dans la prédiction d'accidents cardiaques après infarctus du myocarde (IM), dans certaines affections cardiaques comme les cardiomyopathies hypertrophiques et dilatées (Fauchier et coll, 1992), ou dans la prédiction de l'efficacité d'un traitement anti-arythmique.

Dans l'industrie pharmaceutique, et plus particulièrement pour l'évaluation de la sécurité du médicament, il est important d'évaluer l'innocuité d'une molécule en développement, notamment vis à vis de la fonction cardiovasculaire. Cela doit être réalisé à l'aide d'une méthode fiable et facile à mettre en pratique en routine. Jusqu'à présent, le seul marqueur clinique utilisé en phase pré-clinique de développement d'une molécule pour évaluer son potentiel pro-arythmique est l'allongement de l'intervalle QT (Haverkamp et coll., 2000 ; Fenichel et coll., 2004). Or, cet outil facilement exploitable chez l'homme, l'est plus difficilement chez le chien en raison de la grande variabilité inter-individuelle de cette variable, et des nombreux facteurs influençant sa valeur. Cela amène donc à rechercher une autre méthode pour appréhender ces risques potentiels.

Ce travail est le quatrième volet d'une étude globale visant à évaluer la pertinence de l'examen ECG HR dans la prédiction du potentiel pro-arythmique d'une molécule. Plusieurs étapes ont déjà été réalisées. Il s'agit de montrer que les PVT, observés lors des phénomènes de ré-entrée ischémique (comme on en rencontre dans le cadre des IM), sont aussi présents lorsqu'une ré-entrée pharmacologique survient. Les trois premiers travaux ont confirmé cette hypothèse. Sébille a tout d'abord montré la reproductibilité et la répétabilité de l'examen chez le miniporc sain (Sébille, 1997). Le second volet (étude interne non publiée) a ensuite montré, toujours chez le miniporc, la survenue de PVT après administration de flécaïnide, qui est un agent antiarythmique de classe Ic, connu pour provoquer des retards de conduction à forte dose et des éventuelles ré-entrées. Puis le troisième volet (de Barbeyrac, 2004) a montré la reproductibilité et la répétabilité de l'examen ECG HR chez le chien, avant de montrer la survenue des PVT après administration de flécaïnide. Nous nous sommes attachés dans ce quatrième volet à étudier la capacité de l'examen ECG HR à mettre en évidence chez le

miniporc les propriétés arythmiques de la terfénadine, un antihistaminique de deuxième génération, retiré du marché après plusieurs cas rapportés d'arythmies graves, comme des torsades de pointes, dues à des anomalies de conduction. Nous avons choisi cette molécule car son mécanisme d'action sur le myocarde est différent de celui du flécaïnide, et qu'elle n'a initialement pas de visée cardiovasculaire.

Dans ce travail, seront présentées les données bibliographiques concernant la technique d'ECG HR et ses applications ainsi que la terfénadine, puis les différentes phases expérimentales réalisées ainsi que leurs résultats.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- DEFINITION, HISTORIQUE, PREMIERES OBSERVATIONS ET PREMIERS ENREGISTREMENTS

Les PVT sont des signaux électriques de faible amplitude (de l'ordre de quelques microvolts (µv)) et de haute fréquence, qui surviennent à la fin du complexe QRS ou au début du segment ST, c'est-à-dire pendant la période de la fin de dépolarisation et du début de la repolarisation ventriculaire.

Boineau et Cox ont mis en évidence une activité électrique retardée s'étendant jusqu'à environ 250 millisecondes (ms) après le début de la dépolarisation. Ces observations, réalisées à partir d'électrodes placées directement à la surface d'un myocarde ischémié de chien, ont suggéré à leurs auteurs une dépolarisation asynchrone des cardiomyocytes de la région explorée. Cela se traduisait par une diminution de l'amplitude de la déflexion et par un allongement de la durée de l'activité électrique correspondant à la dépolarisation ventriculaire (Boineau et Cox, 1973).

Dans le même temps, des potentiels tardifs ont été constatés et enregistrés sur deux patients souffrant de tachycardie ventriculaire (TV) récidivante et résistante aux traitements médicaux, au cours des interventions chirurgicales curatives. Ces potentiels survenaient après les déflexions normales correspondant au QRS, et cette activité électrique n'était pas visible sur l'électrocardiogramme (ECG) de surface (Fontaine et coll., 1975).

Berbari et coll, ayant précédemment utilisé une technique de sommation et moyennage du signal électrocardiographique pour mettre en évidence les potentiels du faisceau de His à la surface du thorax (Berbari et coll., 1973), ont appliqué cette technique au segment ST. C'est ainsi qu'ils ont mis en évidence les PVT directement à la surface du thorax sur un modèle d'infarctus du myocarde canin (Berbari et coll., 1978).

A la même période, Frank et son équipe sont parvenus aussi à enregistrer les PVT à la surface du thorax sur quatre cas de dysplasie du ventricule droit arythmogène (DVDA), en utilisant la même technique (Frank et coll., 1978).

Cependant, la technique appliquée à l'enregistrement de ces potentiels tardifs n'était pas encore au point, et il a fallu attendre quelques années plus tard, le travail réalisé par Simson et coll., qui proposèrent une amélioration de la méthode grâce à ses recherches chez le chien (Simson et coll., 1981a) et les premiers critères de présence de PVT chez l'homme (Simson, 1981b).

En 1991, un comité international composé de l'European Society of Cardiology, de l'American Heart Association et de l'American College of Cardiology a proposé une standardisation de la méthode d'acquisition et de traitement des signaux dans le but d' « aligner » les appareils proposés par les différents constructeurs, afin de rendre leurs résultats comparables (Breithardt et coll., 1991).

II- PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT

II.1- Acquisition et traitement des données

II.1.1- Recueil des signaux électriques : le système de dérivations orthogonales

Le système utilisé est le système de dérivations bipolaires orthogonales X, Y, Z, qui permet une exploration électrique du cœur selon trois plans : les composantes horizontale, verticale et antéro-postérieure de l'activité électrique cardiaque. La figure 1 indique les emplacements habituellement utilisés chez l'homme.

Le système de dérivations orthogonales a été adopté comme standard, plus par consensus international (Breithardt et coll., 1991) que par réelle validation scientifique.

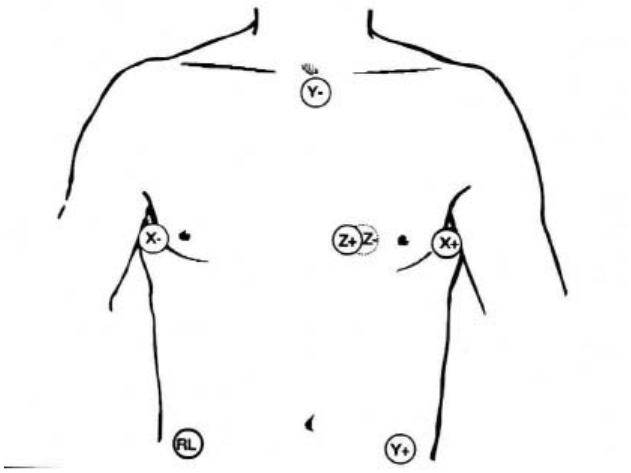


Figure 1 : Système de dérivations orthogonales : emplacement des électrodes chez l'homme
(D'après le manuel d'utilisation de l'appareil ECG HR pagicardiette)

Une préparation soigneuse de la peau est nécessaire pour améliorer le contact entre la peau et les électrodes : il est préconisé une action mécanique légèrement abrasive (avec de l'alcool ou autre solvant) afin de diminuer l'impédance qui est une source de "bruit", c'est-à-dire d'interférences électriques pouvant affecter la qualité du signal recherché. Par ailleurs, les électrodes utilisées pour une même dérivation doivent être identiques, afin de limiter les différences d'impédance entre les deux électrodes d'une dérivation, pour améliorer la qualité du signal.

Enfin, les électrodes doivent être placées au même endroit d'un recueil à l'autre car il existe autant d'enregistrements ECG HR que de positions d'électrodes (Fontaine et coll., 1978 ; Calvert, 1998a).

Le principe général du système d'acquisition et d'analyse des données de l'ECG HR est présenté sur la figure 2.

II.1.2- Amplification et pré-filtrage

Etant donnée la faible amplitude des PVT (quelques μv), une amplification du signal est préalablement nécessaire. En général, les systèmes d'amplification utilisés permettent un gain de 1000 à 8000. Le pré-filtrage permet d'appliquer cette amplification à des fréquences comprises entre 0.05 et 300 Hz, ce qui est très large comparé au filtrage des appareils d'ECG standard qui filtrent entre 1 Hz, pour éliminer les fréquences inférieures dues aux mouvements respiratoires des animaux, et 50 Hz, pour éliminer les fréquences supérieures, notamment les interférences dues au système électrique. Enfin, le système d'amplification doit être correctement conçu afin de limiter le « bruit électrique », c'est-à-dire les interférences électriques qu'il pourrait apporter au signal.

II.1.3- Numérisation du signal

Le traitement informatique nécessite une conversion préalable du signal analogique en signal numérique. Le convertisseur doit avoir une fréquence d'échantillonnage au moins égale à 1000 Hz (Berbari et coll., 1991). La seconde caractéristique du convertisseur est sa résolution numérique : plus elle est élevée, moins la numérisation entraîne de perte d'information (aspect du tracé « en marche d'escalier » du à la numérisation).

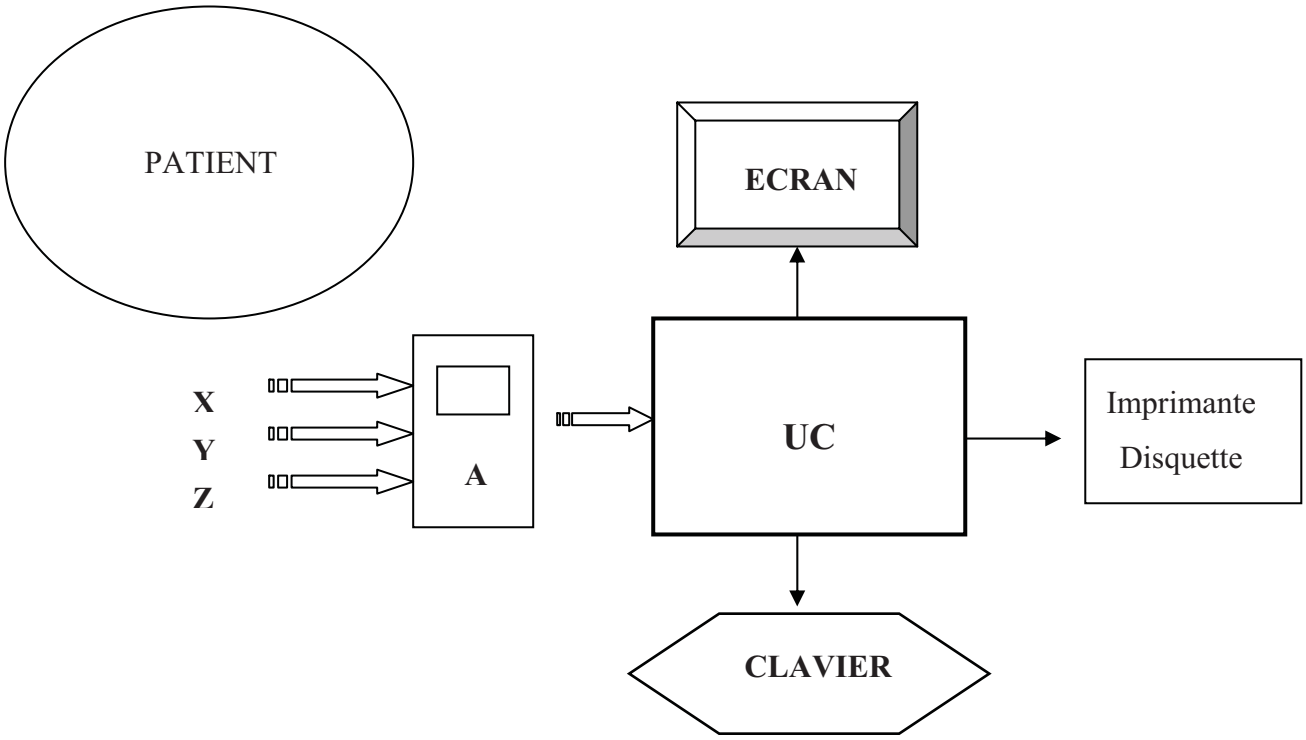


Figure 2 : Principe général du système d'acquisition et d'analyse des données de l'électrocardiographie haute-résolution

UC : Unité centrale (numérisation + pré-filtre + sommation-moyennage + filtre)
A : Boîtier Amplificateur
(d'après la thèse de Pascale de Barbeyrac, 2004)

Des résolutions de 12 ou 16 bits sont proposées pour les appareils ECG HR, ce qui est comparable aux appareils d'ECG standard actuellement utilisés (Logier, 2001).

II.1.4- Sommation et moyennage

II.1.4.1- Intérêt

Les signaux recherchés sont de très faible amplitude (quelques μv) ce qui empêche de les mettre en évidence sur un tracé ECG standard. En effet, les PVT sont masqués par les interférences (bruit de fond) créant des déflexions, d'amplitude supérieure à celle des signaux recherchés, et de fréquence comparable : cela empêche la simple utilisation de filtres de fréquence pour s'affranchir de ce bruit de fond.

Ce bruit provient de sources multiples : l'environnement électrique crée des interférences à 50-60 Hz qui masquent les PVT, l'amplificateur et le convertisseur analogique/numérique peuvent aussi être source de bruit, ainsi que l'interface peau-électrode. Enfin, l'activité des muscles squelettiques, notamment celle des muscles respiratoires, engendre une activité électrique qui s'ajoute au bruit de fond.

Il existe des moyens d'abaisser le niveau de bruit, notamment en coupant tout appareil électrique en fonctionnement, en utilisant des amplificateurs et convertisseurs bien conçus, en pratiquant une préparation soigneuse de la peau ou en mettant le patient dans des conditions où ses muscles sont relâchés, mais on ne peut s'affranchir de toute source de bruit, notamment celui engendré par les muscles respiratoires.

Or, le bruit apparaît de manière aléatoire, sans périodicité, contrairement au signal qui apparaît de manière périodique et régulière : d'un battement à l'autre, les composantes du bruit ne se retrouvent pas au même endroit et n'ont pas la même amplitude.

En sommant et en moyennant un certain nombre de complexes, le rapport signal sur bruit est augmenté: les composantes aléatoires du bruit de fond électrique sont diminuées, alors que les composantes périodiques du signal (dont font partie les PVT), sont conservées. Ce système permet de faire ressortir le signal recherché, initialement masqué par toutes les sources de bruit.

Il est important d'obtenir, à la fin du moyennage, un signal contenant le moins de bruit possible : la diminution du bruit résiduel après moyennage permet d'augmenter la sensibilité du test sans en altérer la spécificité (Steinberg et coll., 1989). La diminution du bruit de fond

améliore la précision avec laquelle sont détectées les limites de début et de fin du complexe QRS filtré, dont l'importance est capitale pour l'analyse ultérieure du signal moyenné et filtré.

Les standards préconisent un bruit résiduel inférieur à 1 μv avec un filtre passe-haut de 25 Hz (cf. infra), et inférieur à 0.7 μv avec un filtre passe-haut de 40 Hz. Un bruit résiduel de 0.4 μv est le meilleur compromis entre le temps d'examen nécessaire à l'obtention de cette valeur de bruit et la qualité de l'analyse qu'offre cette valeur.

II.1.4.2- Principe

Le principe du moyennage consiste tout d'abord à choisir un complexe QRS de référence, auquel est comparé tout nouveau complexe. Cette première étape de choix du complexe doit être réalisée avec soin car dans le cas où le complexe de référence est trop parasité, le bruit de ce complexe est considéré comme faisant partie du signal. Il s'établit un seuil en deçà duquel il est impossible de diminuer la valeur du bruit, malgré l'ajout de nouveaux complexes.

Ensuite, la sommation commence et tout complexe QRS ajouté subit des étapes de détection, alignement et classification afin de pallier le fait que le signal n'est en réalité pas tout à fait périodique (fluctuations de la fréquence cardiaque, donc de l'intervalle R-R). Cela permet en outre d'éliminer les complexes trop bruités ou ectopiques qui ne feraient qu'ajouter du bruit s'ils étaient intégrés au moyennage (Savard, 1992).

Différents algorithmes sont utilisables pour ces étapes, dont le plus fréquemment utilisé est le pourcentage de corrélation du nouveau complexe avec le complexe de référence. Un taux de corrélation de 95% donne des résultats satisfaisants.

Cette méthode de sommation et moyennage permet de diminuer le bruit initial de manière proportionnelle au nombre de battements utilisés pour le moyennage : il est ainsi divisé par la racine carré du nombre de battements retenus. Cependant, si le signal de départ est trop parasité, le moyennage perd de son efficacité, et la diminution du bruit ne se fait plus selon la relation précédente (division du bruit par la racine carré du nombre de battements) (Lippens et coll., 1989).

II.2- Analyse du signal moyenné et amplifié

Il est possible d'utiliser plusieurs domaines d'analyse des signaux moyennés et filtrés.

- l'analyse temporelle, la plus courante, mais qui présente des limites d'utilisation.
- l'analyse fréquentielle, moins utilisée que la précédente, mais permettant d'apporter des informations supplémentaires par rapport à la précédente.

II.2.1- Analyse temporelle

Cette méthode d'analyse passe par deux étapes : une étape de filtrage, puis une étape d'obtention et d'analyse du vecteur amplitude (Simson et coll., 1981a).

II.2.1.1- Filtrage bidirectionnel

Les battements moyennés sont filtrés pour chaque dérivation, afin d'éliminer les composantes basses fréquences du segment ST.

La nature du filtre ainsi que sa bande passante sont les deux caractéristiques importantes dont il faut tenir compte dans un système ECG HR.

Gomes et coll. ont montré dans une étude comparative sur la valeur du filtre passe-haut que des valeurs de 25, 40 et 80 Hz offraient chacune des avantages en matière de sensibilité et de spécificité et de valeur prédictive en fonction de la variable ECG HR considérée et du nombre de variables prises en compte pour conclure à la présence de PVT (Gomes et coll., 1987a). Cependant, dans une étude comparant la reproductibilité de la méthode en fonction de la valeur du filtre, Denes et coll. obtiennent de meilleurs résultats avec une valeur de filtre passe-haut de 40 Hz (Denes et coll., 1983). La valeur passe-bas a moins d'importance, et est en général de 250 ou 300 Hz.

En ce qui concerne la nature du filtre, Simson et coll. ont montré que l'utilisation d'un filtre unidirectionnel classique provoquait des oscillations parasites après la zone filtrée, risquant d'altérer la qualité du recueil. L'utilisation d'un filtre bidirectionnel permet d'éliminer ces oscillations parasites, améliorant ainsi la détection des signaux d'intérêt (Simson et coll., 1981a).

II.2.1.2- Analyse du vecteur amplitude

Le vecteur amplitude dérive des trois dérivations X, Y et Z moyennées et filtrées, et vérifie la relation suivante :

$$\mathbf{V(t) = [X(t)^2 + Y(t)^2 + Z(t)^2]^{1/2}},$$

où V(t), X(t), Y(t) et Z(t) sont les valeurs du vecteur et des trois dérivations X, Y et Z respectivement à un temps t.

C'est à partir de ce vecteur que sont analysées les différentes variables de l'ECG HR.

Quatre variables sont communément utilisées pour déterminer s'il y a présence ou non de PVT : elles sont illustrées sur les figures 3a et 3b.

La première variable est la durée totale du complexe QRS filtré **(QRSf)**, exprimée en millisecondes. Cette variable a tendance à augmenter en présence de PVT.

Ensuite, on s'intéresse à la durée de la portion terminale du complexe QRS filtré dont l'amplitude est inférieure à 40 μv **(Low Amplitude Signal : LAS 40)** : sa valeur, en millisecondes, a aussi tendance à augmenter en présence de PVT, puisque ce sont des signaux de faible amplitude (inférieure à 40 μv).

Enfin, l'amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS **(Root Mean Square Voltage : RMS)** et des 40 dernières millisecondes du QRS filtré **(RMS 40)** sont deux variables qui ont tendance à diminuer en présence de PVT, à cause de la faible amplitude de ces signaux survenant à la fin du complexe QRS. Elles s'expriment en microvolts.

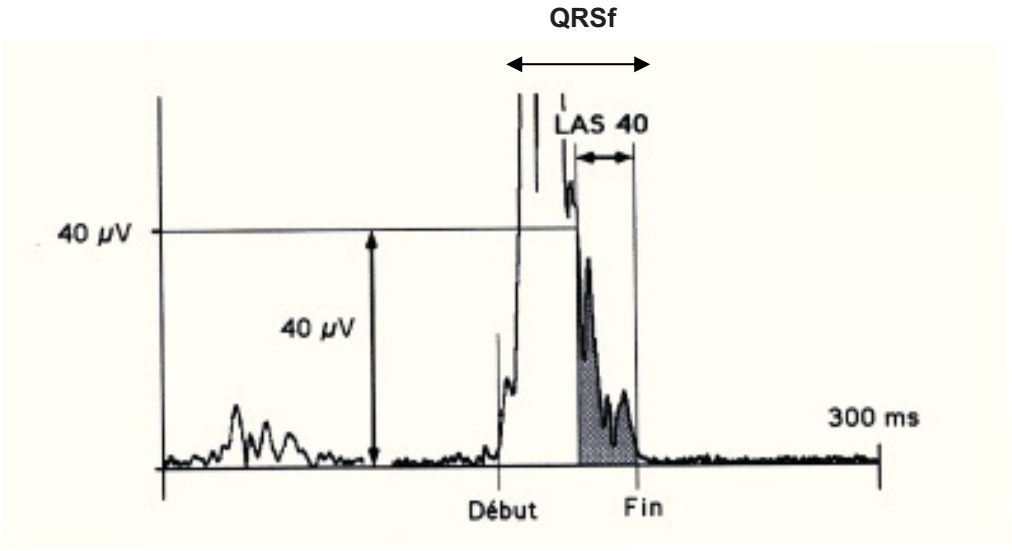
La présence de PVT provoque un effet d' « écrasement » du complexe QRS, surtout visible sur la fin. Les figures 4a et 4b montrent deux exemples de complexe QRS après moyennage et filtrage, avec et sans PVT.

A partir de la définition de ces variables, la détermination des limites du QRS, que ça soit la limite de début ou la limite de fin, est primordiale : ces limites sont fixées automatiquement par un algorithme ou bien visuellement par l'opérateur.

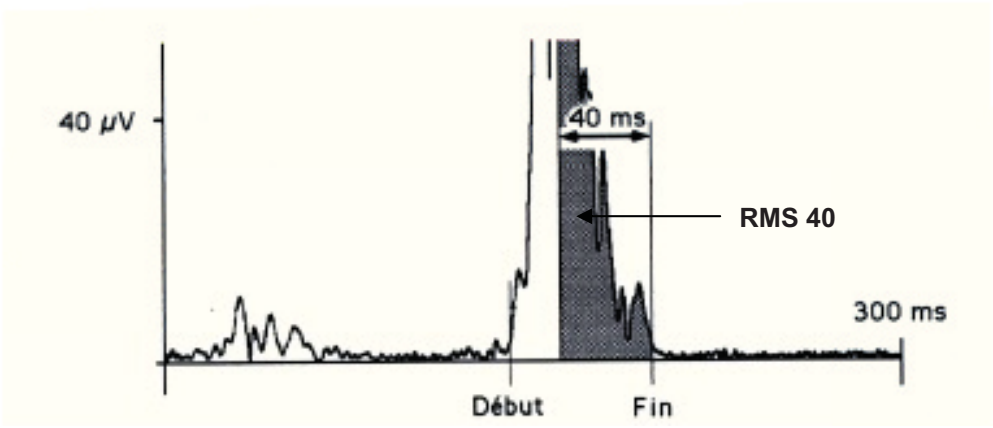
Cette méthode d'analyse, bien que la plus utilisée, présente cependant des limites.

Tout d'abord, l'utilisation de filtres passe-haut risque d'éliminer, ou au moins d'altérer les PVT. De plus, comme les valeurs des filtres sont différentes d'une étude à une autre, il est difficile d'extrapoler les résultats.

3a :

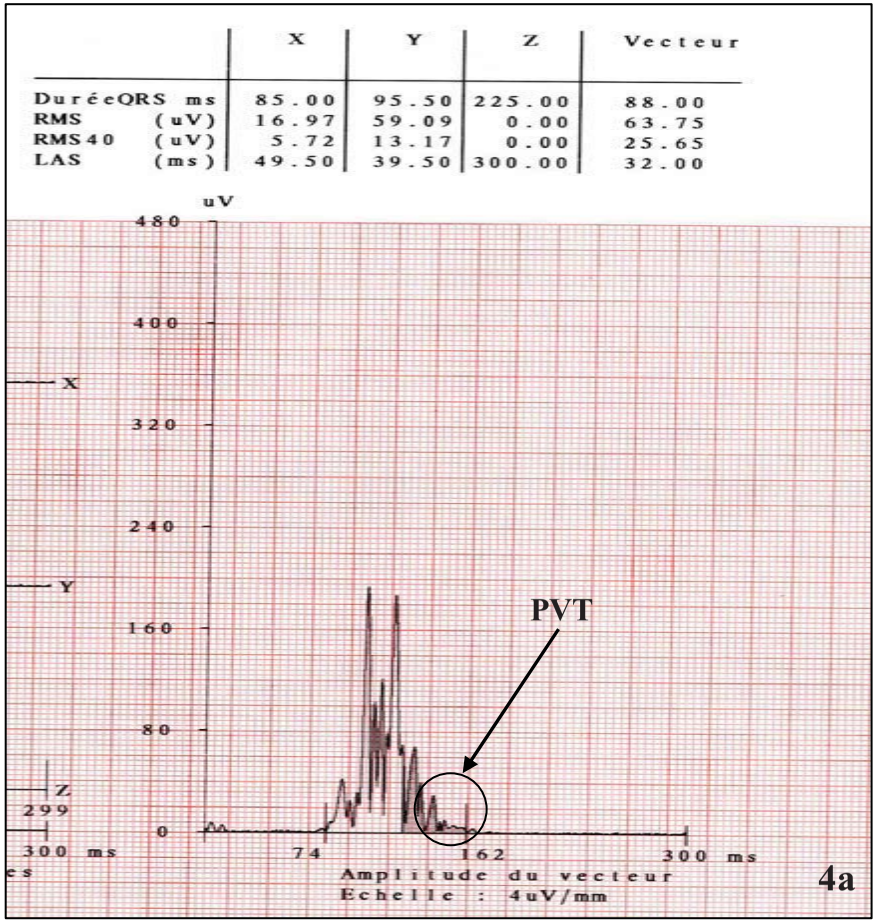


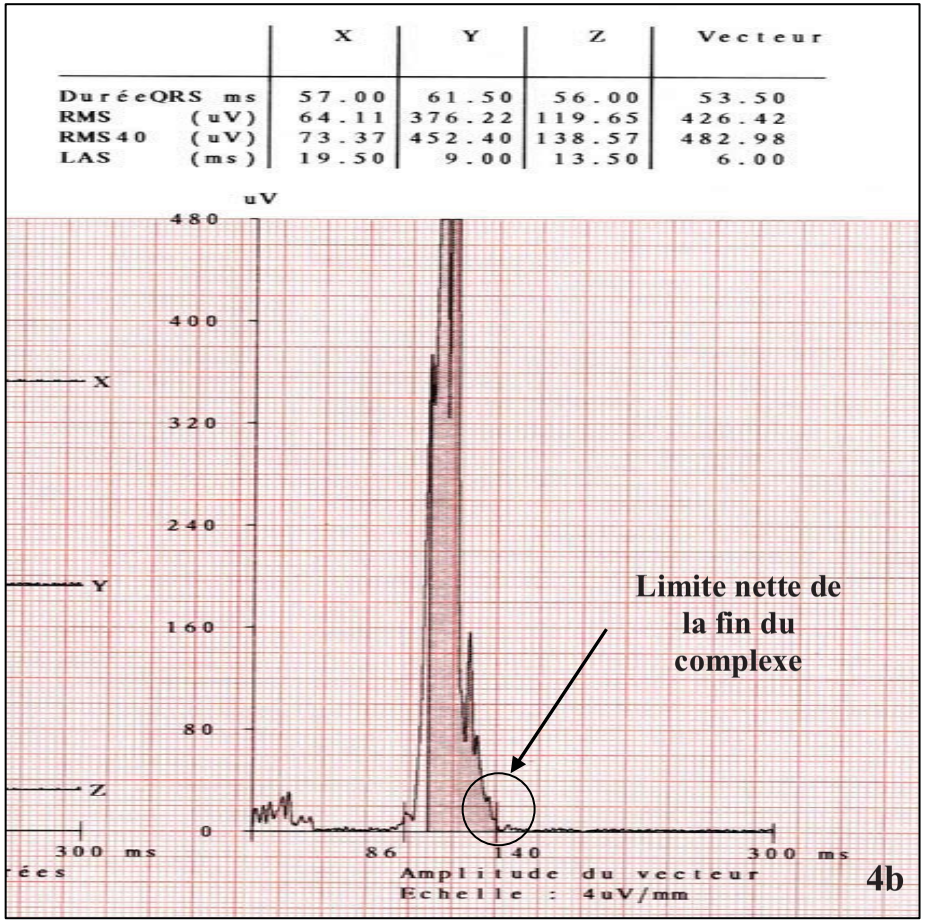
3b :



<u>Figures 3a et 3b</u> : Représentation graphique des variables mesurées en analyse temporelle sur le complexe moyenné et filtré
(D'après la thèse de Olivier Sébille, 1997)

L'axe des ordonnées représente l'amplitude (en µv), l'axe des abscisses représente la durée (en ms)
- Figure 3a : QRSf est la durée totale du complexe moyenné et filtré, LAS 40 est la durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 µv (portion grisée).
- Figure 3b : RMS 40 est l'amplitude moyenne des 40 dernières millisecondes du signal (portion grisée).





Figures 4a et 4b : Exemples de rapports d'analyse, montrant le vecteur amplitude avec (figure 4a) et sans (figure 4b) potentiels ventriculaires tardifs

Sur la figure 4a, le complexe QRS se prolonge par des oscillations de faible amplitude, les PVT. Sur la figure 4b, la fin du complexe est nette et abrupte, et on ne retrouve pas ces oscillations.

Ensuite, la détermination des limites de début et de fin du complexe QRS moyenné et filtré est primordiale pour les valeurs des différentes variables. Or, cette limite est souvent difficile à placer, en raison de la présence du bruit de fond (diminué par le moyennage mais présent).

Enfin, cette méthode d'analyse est moins fiable lors d'étude sur des patients présentant des blocs de branche car l'activation retardée du myocarde sain sous l'effet du bloc peut masquer les PVT.

II.2.2- Autres méthodes d'analyse

En 1984, Cain et coll. ont proposé une analyse fréquentielle du signal, en appliquant au signal un outil mathématique, la transformée rapide de Fourier. Cette méthode permet de décomposer le signal en son spectre de fréquences, et de différencier les patients sujets à des crises de TV de ceux n'en présentant pas suite à un IM (Cain et coll. 1984). Cette même équipe a ensuite proposé une quantification des différences, passant par le calcul d'un rapport des composantes hautes fréquences sur les composantes basses fréquences (Cain et coll., 1985). Par la suite, d'autres techniques d'analyse fréquentielle, que nous ne décrirons pas ici, ont été développées.

Cette approche fréquentielle permet de s'affranchir de certaines limites inhérentes à l'analyse temporelle (citées plus haut). Elle limite l'utilisation des filtres risquant d'éliminer les signaux d'intérêt, est moins dépendante du bruit de fond résiduel, et permet d'inclure dans les études des patients présentant des retards de conduction tels que des blocs de branche (Lindsay et coll., 1988 ; Kinoshita et coll., 1995).

Par ailleurs, certains auteurs ont montré que l'analyse fréquentielle est meilleure que l'analyse classique temporelle chez les patients ayant eu un IM intéressant le myocarde antérieur. En effet, la fragmentation, sur ce genre de lésion, étant plus précoce, les signaux retardés (c'est-à-dire les PVT) risquent d'être masqués par la fin de la dépolarisation du reste du myocarde sain (Buckingham et coll., 1992).

En revanche, les résultats sont plus souvent contradictoires et controversés d'une étude à l'autre lorsque cette méthode d'analyse des fréquences est utilisée (Worley et coll., 1988), et la reproductibilité de la méthode est meilleure en analyse temporelle (Vàsquez et coll., 2000). Les différentes études comparatives montrent par ailleurs que les deux approches d'analyse possèdent des résultats comparables pour ce qui est de la détection de patients présentant des

risques arythmiques. Ces même études montrent enfin que, si chaque méthode possède ses limites propres, la combinaison des deux modes d'analyse reste l'approche la plus efficace dans la prédiction d'accidents arythmiques (Nogami et coll., 1992 ; Kinoshita et coll., 1995 ; Vàsquez et coll., 1999).

II.2.3- Critères de présence des potentiels ventriculaires tardifs

En analyse temporelle, la plus communément utilisée, les variables QRSf et LAS40 ont tendance à augmenter, et RMS ainsi que RMS40 ont tendance à diminuer en présence de PVT (figure 4a et 4b).

Les premiers seuils ont été proposés chez l'homme par Simson, qui a montré que 120 ms pour le QRSf et 25 μv pour le RMS 40 étaient des valeurs discriminantes pour séparer les patients avec ou sans TV spontanée après un IM (Simson, 1981b). Ensuite, Denes et coll. ont proposé d'autres seuils, pour les autres variables, en comparant des patients avec TV post-IM à des patients sains (RMS < 40μV, LAS 40 > 39 ms) (Denes et coll., 1983).

La présence des PVT est assumée différemment en fonction des études: une seule variable hors normes suffit à conclure à la présence de PVT pour certains auteurs alors que d'autres exigent au moins deux variables anormales pour la même conclusion, d'autres encore exigent un QRSf anormal en plus d'une autre variable hors normes.

Cette dernière définition est très importante et peut modifier de manière importante les conclusions d'une étude : pour Gomes et coll., l'incidence de PVT varie de 42 à 27 % si l'on exige une ou deux variables anormales, chez des patients entre 6 et 10 jours post-IM (Gomes et coll., 1989).

Enfin, en fonction des auteurs, l'importance des critères peut varier : Tejima et coll. considèrent que seul un RMS 40 anormal permet de conclure à la présence de PVT (Tejima et coll., 1998) alors que pour Tobé et coll., les valeurs de cette variable ne possèdent pas une distribution normale lors des pré-tests, ce qui contraint les auteurs à l'exclure de l'analyse (Tobé et coll., 1992).

Quoi qu'il en soit, de nombreux facteurs font varier les valeurs seuil des différentes variables (type d'appareil utilisé, valeur du filtre passe-haut, niveau de bruit résiduel …). C'est pourquoi chaque équipe se doit de fixer ses propres critères de présence de PVT (tableau 1).

Tableau 1 : Critères de présence de potentiels ventriculaires tardifs dans différents domaines d'application avec utilisation de différentes valeurs de filtres passe-haut

CMD : Cardiomyopathie dilatée
* Etudes sur animaux

Auteur	But de l'étude	Valeur du filtre	Valeurs normales	Définition de PVT (variables anormales)
Eldar et coll., 1990.	Influence de la thrombolyse sur les PVT.	60-200 Hz	QRSf < 110 ms RMS 40 > 10µv	QRSf et RMS 40
Zimmerman et coll., 1991.	Influence de la thrombolyse sur les PVT.	100- 300 Hz	QRSf < 118 ms LAS 40 < 45 ms	QRSf et LAS 40
Kulakowski et coll., 1992.	Prédiction de l'efficacité du traitement antiarythmique par les PVT.	Valeur passe haut : 25 Hz	QRSf <120 ms LAS 40 < 40 ms RMS 40 > 25 µv	2 sur 3 anormaux.
* Tobé et coll., 1992.	Détermination des valeurs normales chez le miniporc sain	Valeur passe haut : 50 Hz	QRSf < 78 ms LAS 30 < 37 ms RMS 30 > 51 µv	QRSf et /ou LAS 30 anormaux
* Calvert et coll., 1998b.	Suivi de cas de CMD chez le doberman	40 - 250 Hz	QRSf < 75 ms LAS 40 < 25 ms RMS 40 > 118 µv RMS 30 > 30 µv	4 critères anormaux

III- LES POTENTIELS VENTRICULAIRES TARDIFS : UTILISATION PRATIQUE

III.1- Signification électrophysiologique des potentiels ventriculaires tardifs

III.1.1- Relations entre potentiels ventriculaires tardifs et arythmie ventriculaire par ré-entrée

Tout d'abord enregistrés à la surface du cœur sur des modèles expérimentaux d'IM (Boineau et Cox, 1973 ; Scherlag et coll., 1974), ou sur un cas clinique de tachycardie ventriculaire suite à un infarctus (Fontaine et coll., 1975), les PVT ont été identifiés comme étant des activités électriques fragmentées et retardées dans la zone de myocarde ischémié. Ces études avaient établi un lien encore peu précis entre ces activités retardées et la survenue d'arythmies ventriculaires.

Puis, grâce à la méthode de sommation et moyennage, des micropotentiels retardés par rapport au QRS ont pu être enregistrés à la surface du thorax, par une méthode non invasive. Plusieurs auteurs ont montré la correspondance entre ces potentiels tardifs thoraciques et les activités retardées mises en évidence directement à la surface du cœur chez l'animal (Berbari et coll., 1978) et chez l'homme (Fontaine et coll., 1975).

Deux mécanismes sont communément admis pour expliquer le développement d'une TV : l'existence d'un automatisme exacerbé d'un foyer ectopique dû à la nécrose (Harris, 1950) ou la présence d'une boucle de ré-entrée (figure 5). D'après les travaux réalisés avec la technique de cartographie épicardique, le mécanisme de ré-entrée apparaît prépondérant dans le développement de ces arythmies (Fontaine et coll., 1978). Or, il semble que les activités retardées enregistrées au niveau de la zone de myocarde ischémié le soient suffisamment pour autoriser un phénomène de ré-excitation, pouvant ainsi engendrer une ré-entrée.

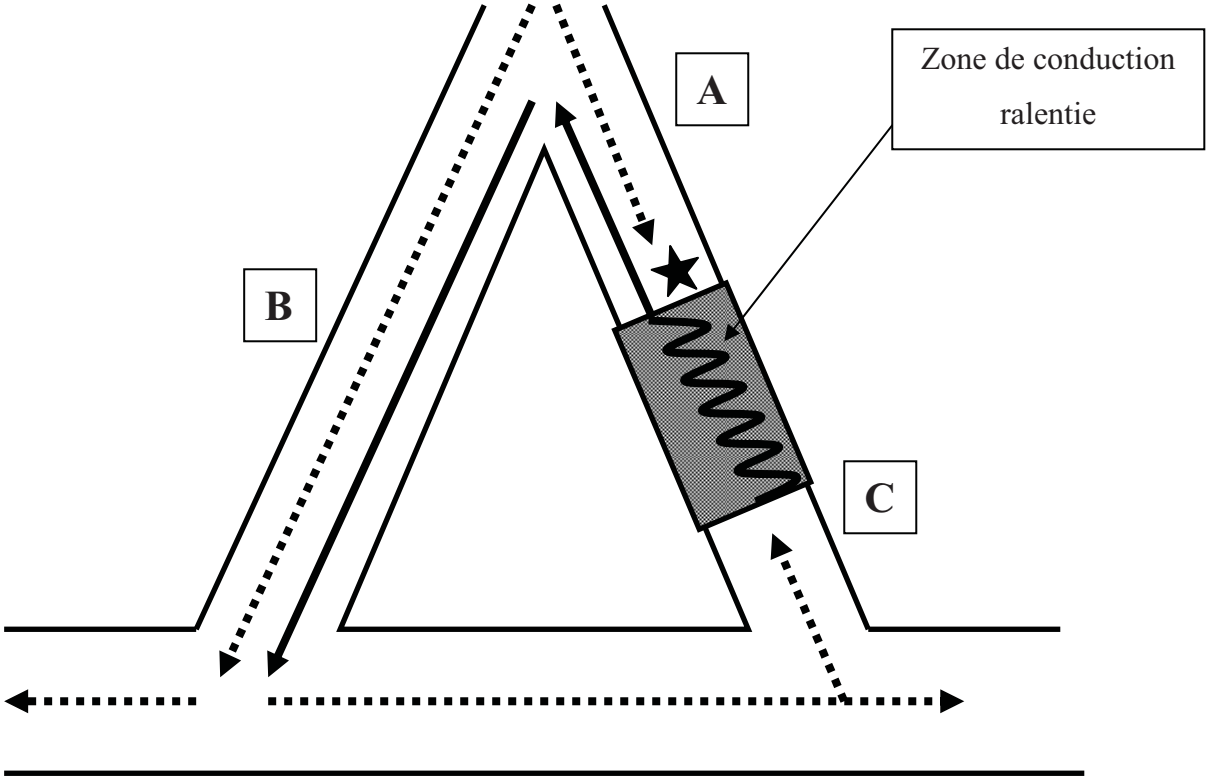


Figure 5 : Principe général de la ré-entrée

L'influx nerveux « normal » (▪▪▪▶) arrive à la bifurcation et se divise en deux branches, **A** et **B**.

Dans la branche **A**, l'influx est stoppé au niveau d'une zone de bloc unidirectionnel (★), correspondant à une extrémité d'une zone de conduction ralentie (▩).

En **B**, il chemine normalement jusqu'à atteindre **C**, qui correspond à l'autre extrémité de la zone de conduction ralentie.

L'influx chemine donc dans cette zone dans le sens antérograde, pour retourner au niveau de la branche **A**. Si la conduction est assez ralentie dans cette zone « anormale » pour laisser le temps aux fibres de la branche **A** de sortir de leur état réfractaire, l'influx va donc ré-exciter ces fibres (➡), définissant ainsi la ré-entrée.

La ré-entrée peut rester unique, ou se répéter si les fibres de la branche **B** sont de nouveau excitables, créant ainsi une boucle de ré-entrée.

Les travaux de El Scherif et coll. ont montré le lien « électrique » entre les potentiels retardés s'étendant dans la diastole et la survenue de l'arythmie par ré-entrée (El Scherif et coll., 1977 a et b) : si le retard de conduction est suffisant dans la zone de myocarde ischémié, la zone bordante de myocarde sain n'est plus en période réfractaire. Elle peut alors être ré-excitée et donner ainsi naissance à une ré-entrée.

III.1.2- Corrélations histopathologiques

Le cadre d'études des PVT est une lésion du myocarde : soit dans le cas de phénomènes aigus de nécrose (lors d'infarctus aigu du myocarde), soit lors de processus dégénératifs ou atrophiques chroniques, dans le cas d'une cicatrice d'infarctus avec fibrose, ou de fibrolipomatose substitutive que l'on rencontre dans la DVDA (Rossi, 1992).

La zone lésée est constituée de faisceaux de fibres myocardiques viables isolés au sein d'un tissu anormal inexcitable. La vitesse de conduction dans ces fibres viables est normale (Gardner et coll., 1985, de Bakker et coll., 1988). En revanche, l'interposition de septas fibreux peut s'opposer à la conduction normale parallèle à l'axe des fibres. C'est ainsi qu'une propagation transversale de l'influx, moins rapide, va se mettre en place, entraînant la fragmentation de l'onde de dépolarisation, et l'augmentation du trajet à parcourir (Molin et Lacroix, 1992).

Ceci explique la présence des activités retardées et fragmentées au niveau de la zone d'IM.

En conclusion, les potentiels ventriculaires tardifs, enregistrés à la surface du thorax par une méthode non invasive, sont la traduction du substrat électrophysiologique et histologique d'un phénomène de ré-entrée, potentiellement arythmogène. Les altérations responsables de cette instabilité électrique, surviennent essentiellement au décours d'un phénomène ischémique, qui constituera la principale source d'étude et d'application clinique des PVT.

III.2- Applications cliniques

Historiquement, c'est sur des cas de DVDA que les premiers enregistrements de PVT ont été réalisés à la surface du thorax.

Par ailleurs l'utilisation des PVT a montré un intérêt non négligeable dans la prédiction des accidents cardiaques dans le cadre de cardiopathie non ischémique chez l'homme (Poll et coll., 1985, Kinoshita et coll., 1995) et chez le chien (Calvert et coll., 1998b ; Spier et coll., 2004). C'est néanmoins dans le cadre des maladies ischémiques (et surtout de l'IM) que l'examen ECG HR a été le plus étudié.

La plupart des études expérimentales ont été réalisées sur des modèles d'IM. De même, les études cliniques se sont majoritairement intéressées à l'utilisation des PVT dans le suivi des patients ayant survécu à un IM, afin notamment de prédire la survenue d'arythmies graves par ré-entrée ou de mort subite.

III.2.1- Suivi des patients après un infarctus du myocarde

III.2.1.1- Incidence des potentiels ventriculaires tardifs après un infarctus du myocarde

La notion de fréquence des PVT dans cette population est assez délicate à définir. En effet, cette incidence est très variable et dépend de nombreux facteurs.

Tout d'abord, la méthode d'enregistrement et les critères de présence des PVT influencent beaucoup cette valeur. Comme nous l'avons vu plus tôt, il n'y a pas une définition précise de présence de PVT, mais chaque étude possède ses propres critères en fonction de la méthode utilisée (tableau 1). Ainsi Gomes et coll., dans une même étude, trouvent des incidences de PVT allant de 33 à 58 % dans une cohorte de patients post-IM, en fonction de la variable ECG HR considérée pour conclure à la présence de PVT (Gomes et coll., 1985).

Dans une autre étude, l'incidence des potentiels retardés chute de 42 à 27 % en fonction du nombre de variables anormales exigé pour conclure à la présence de PVT (Gomes et coll., 1989).

Le type de population étudiée va aussi modifier l'incidence des PVT. Chez des patients présentant des troubles du rythme ventriculaire en période post-IM, les PVT sont présents dans environ 90 % des cas alors que seulement 30 % des patients asymptomatiques présentent des PVT dans cette même période (Simson, 1981b ; Kanovsky et coll., 1984 ; Varenne et coll., 1986 ; De Chillou et coll., 1993).

Le moment d'enregistrement de l'ECG HR par rapport à la survenue de l'infarctus va modifier l'incidence des PVT. En effet, les remaniements tissulaires qui s'opèrent au décours d'un phénomène ischémique aigu peuvent expliquer l'évolution dynamique des PVT. Ces derniers sont présents dans 13 à 17 % des cas dans la première semaine post infarctus, dans 24 à 25 % des cas si l'enregistrement est réalisé entre 6 et 30 jours post infarctus, et dans 16 à 18 % des cas lorsque l'enregistrement est réalisé entre 30 et 60 jours post infarctus (Turrito et coll., 1988a ; El Sherif et coll., 1989). Par ailleurs, dans l'étude de Kuchar et coll., 30 % des patients présentant des PVT avant la prise en charge hospitalière négativent leur tracé ECG HR au cours de la période de suivi (6 mois), alors que l'apparition de PVT reste un phénomène rare et coïncide en général avec une récidive d'infarctus (Kuchar et coll., 1986).

III.2.1.2- Valeur pronostique

Comme le résume le tableau 2, la présence de PVT après un IM est associée à un risque plus élevé d'accident arythmique (c'est-à-dire arythmie ou MSC) dans une période de suivi (4 mois à un an).

Tableau 2: Incidence d'accidents arythmiques chez les patients présentant (PVT +) et ne présentant pas (PVT -) de potentiels ventriculaires tardifs

MSC : Mort subite cardiaque

Auteur	Méthode	Accident rythmique (arythmie grave ou MSC)	
		PVT +	PVT -
Breithardt et coll., 1983a	160 patients, suivi 7 + / - 3mois	28 %	3.8 %
Denniss et coll., 1986a	306 patients, suivi 12 mois	21 %	3 %
Kuchar et coll., 1986	165 patients, suivi d'au moins 6 mois	17 %	1 %
Gomes et coll., 1987b	102 patients, suivi 12 + / - 6 mois	29 %	3.5 %
El Sherif, 1989	156 patients, suivi d'au moins 1 an	23 %	3 %

En considérant les valeurs prédictives positive (17 - 29 %) et négative (96 - 99 %) des PVT pour la survenue d'un accident rythmique post-infarctus, il semble que l'absence de PVT traduit un risque arythmique faible. En revanche, moins d'un tiers des patients présentant des PVT présenteront une arythmie grave ou une mort subite cardiaque (MSC).

Les différentes études s'intéressant à l'évolution dynamique des PVT après un IM ont montré que les PVT n'ont que peu de valeur prédictive lorsqu'ils sont enregistrés dans la première semaine après l'infarctus, et que leur enregistrement entre le 6ème et le 30ème jour semble le plus prédictif de la survenue d'un accident rythmique dans l'année suivant l'infarctus (Turrito et coll., 1988a ; Brembilla-Perrot et coll., 1991). El Sherif et coll. affinent même ces résultats en montrant que le meilleur moment pour enregistrer les PVT se situe entre le 6ème et le 14ème jour post-IM (El Sherif et coll., 1989).

La présence du substrat arythmogène détecté par la présence de PVT ne suffit pas à la survenue d'une MSC. Il convient ainsi d'envisager l'examen ECG HR comme faisant partie d'un ensemble de tests non invasifs, explorant d'autres facteurs éventuels de risque : la présence d'une activité ectopique élevée mise en évidence par l'enregistrement Holter, ou une fraction d'éjection ventriculaire gauche diminuée (< 40 %) traduisant un dysfonctionnement ventriculaire gauche.

Les résultats de l'examen ECG HR et de l'enregistrement Holter sont indépendants pour la prédiction d'arythmie grave post-IM (El Scherif et coll., 1989). Ces deux examens n'explorent en effet pas le même risque : le premier identifie la présence du substrat pouvant supporter une boucle de ré-entrée, alors qu'une activité ectopique élevée identifie les complexes ectopiques qui pourraient être le point de départ de cette boucle de ré-entrée. Ces deux examens peuvent alors être considérés comme complémentaires dans la prédiction du risque d'arythmie post-IM. D'ailleurs, la combinaison de ces différents facteurs de risque permet d'obtenir de meilleurs résultats en matière de valeur prédictive positive (jusqu'à 50 %), sélectionnant ainsi les patients à haut risque d'arythmie grave ou de MSC post-IM (Gomes, 1987b ; Ćosić et coll., 2004).

III.2.1.3- Prédiction des résultats de la stimulation ventriculaire programmée

Selon Richards et coll., l'induction d'une TV soutenue par stimulation ventriculaire programmée (SVP) après un IM est le meilleur facteur prédictif de la survenue d'un événement arythmique grave (Richards et coll., 1991).

Tout comme la présence de PVT, les tests de SVP explorent la présence d'un substrat arythmogène.

Néanmoins, il semble difficile de systématiser ce test à tous les patients ayant survécu à un IM, en raison de sa valeur prédictive positive faible et du caractère invasif de l'examen.

Plusieurs études portant sur différentes populations (avec ou sans trouble du rythme spontané documenté) ont montré que la présence de PVT était corrélée positivement avec l'induction d'une TV par la SVP: ceci a été montré chez l'homme (Breithardt et coll, 1983b ; De Chillou et coll., 1993), mais aussi chez l'animal (Kuchar et coll., 1990, Tobé et coll, 1992). En revanche, cette corrélation n'est pas aussi évidente pour l'induction d'une fibrillation ventriculaire (Denniss et coll., 1986a).

En plus de cette corrélation, certaines études ont montré que l'examen ECG HR permet de sélectionner les patients qui peuvent tirer un réel bénéfice diagnostique de la SVP. En effet, la présence de PVT prédit l'induction d'une TV soutenue avec une sensibilité de 64 à 82 %, une spécificité de 80 à 89 %, une valeur prédictive négative de 90 à 96 % et une valeur prédictive positive de 41 à 60 % (Turitto et coll., 1988b ; De Chillou et coll., 1993).

Les PVT sont donc un outil efficace qui permet de prédire la survenue d'arythmies sévères ou de MSC chez les patients ayant survécu à un infarctus du myocarde. Il convient cependant de confronter les résultats obtenus avec ceux d'autres tests non invasifs (enregistrement Holter, évaluation de la fraction d'éjection ventriculaire gauche) et avec des données cliniques dans le but de sélectionner les patients à haut risque qui tireront un réel bénéfice de tests plus invasifs ou de la mise en place d'un traitement anti-arythmique.

III.2.1.4- Evaluation de la reperméabilisation artérielle par mise en place d'un traitement thrombolytique

Plusieurs auteurs ont étudié les effets d'un traitement thrombolytique précoce (moins de 4 heures après l'infarctus) sur l'incidence des PVT : le groupe traité par fibrinolyse a un taux de PVT moins élevé que le groupe traité de manière conventionnelle (Zimmerman et coll., 1991 ; Eldar et coll., 1990).

Dans l'étude d'Eldar et coll., les potentiels tardifs étaient présents de manière identique dans les 2 jours post-infarctus chez les patients traités et chez ceux ayant reçu un traitement conventionnel. Les enregistrements ECG HR réalisés 10 jours post-IM ont révélé une augmentation de l'incidence des PVT chez les patients n'ayant pas reçu le traitement

fibrinolytique, alors que cette incidence n'avait pas évolué chez les patients traités (Eldar et coll., 1990). Or, nous avons vu précédemment qu'il existe une dynamique d'apparition des PVT dans la première semaine post infarctus et que leur incidence a tendance à augmenter au cours de cette période (El Scherif et coll., 1989). La reperméabilisation artérielle précoce par un traitement fibrinolytique (ou autre : angioplastie coronaire) semble donc limiter le développement du substrat arythmogène.
Il semble par ailleurs que l'administration d'un traitement fibrinolytique est associé à long terme (suivi à un an), à un taux plus bas de survenue de mort subite (Zimmermann et coll., 1991).

III.2.2- Potentiels ventriculaires tardifs et thérapeutique cardiaque

III.2.2.1- Potentiels ventriculaires tardifs et traitements médicaux

Les auteurs ayant étudié les effets des différentes substances anti-arythmiques ne s'accordent pas tous sur leurs conclusions : il semble cependant que les substances de classe Ib (mexiletine) et de classe III (classification de Vaughan Williams) ne modifient pas la valeur des variables ECG HR (Kulakowsky et coll., 1992 ; Denniss et coll., 1986b ; Lombardi et coll., 1992). L'effet des bêta-bloquants est plus controversé : pour Denniss et coll., ils ne modifient pas les valeurs des variables ECG HR, indépendamment de leur efficacité anti-arythmique (Denniss et coll., 1986b), alors que pour Evrengul et coll., qui ont comparé l'évolution de l'incidence des PVT dans les 10 jours suivant l'IM chez des patients traités avec des bêta-bloquants et chez les patients non traités, l'incidence des PVT est diminuée chez les patients traités (Evrengul et coll., 2004).
Les agents de classe Ic (flécaïnide) rallongent la durée du QRSf et du LAS 40 et diminuent l'amplitude du RMS 40 (de Barbeyrac, 2004) : autrement dit, ils engendrent la présence de PVT, mais indépendamment de leur efficacité anti-arythmique (Lombardi et coll., 1992).
Enfin, Kulakowsky et coll. ont montré qu'un allongement de QRSf > 15 % prédit l'efficacité d'un traitement antiarythmique (procaïnamide) avec une sensibilité, une spécificité et une valeur prédictive de 87, 81 et 81 %, respectivement (Kulakowsky et coll., 1992).

Quoi qu'il en soit, les études sont peu nombreuses et leurs conclusions ne concordent pas toujours. Certaines classes de médicaments font varier les variables ECG HR, c'est pourquoi les études faisant intervenir cet examen doivent être réalisées en dehors de tout traitement anti-arythmique susceptible d'en modifier les conclusions.

III.2.2.2- Potentiels ventriculaires tardifs et traitements chirurgicaux

Le tableau 3 (non exhaustif) présente des exemples d'utilisation des PVT en chirurgie cardiaque.

Tableau 3 : Exemples d'application de l'électrocardiographie haute-résolution dans la prédiction de résultats de différentes chirurgies cardiaques

Auteur	But de l'étude	Intérêt des PVT
Rozansky et coll., 1981	Relation entre PVT et anévrysmectomie (4 patients).	Suppression des PVT dans 100% des cas après la chirurgie, associée à un succès chirurgical.
Marcus et coll., 1984	Relation entre PVT et résection sous endocardique dans le traitement d'une TV récidivante et réfractaire aux traitements médicaux.	L'absence de PVT post opératoire est associée au succès chirurgical. La persistance de PVT post-opératoire n'est pas associée à un échec chirurgical.
Haberl et coll., 1987	Prédiction du rejet de transplantation cardiaque par l'ECG HR, analysé dans le domaine de fréquences	Modifications significatives du spectre de fréquence en cas de rejet de greffe → Utilisation des PVT comme alternative aux biopsies

.

IV- PHARMACOLOGIE ET CARDIOTOXICITE DE LA TERFENADINE

IV.1- Données pharmacologiques

La terfénadine (Seldane ®) (figure 6) est un des premiers antihistaminiques de seconde génération à avoir été mis sur le marché au début des années 80 avec l'astémizole (Hismanal®) et a été l'un des plus prescrits (De Abajo, 1999). Les antihistaminiques sont utilisés dans le traitement symptomatique ou en prévention de toutes les manifestations allergiques (rhinite, conjonctivite, urticaire). Ils exercent une inhibition compétitive sur les récepteurs H_1 de l'histamine.

Les antihistaminiques de seconde génération se distinguent des premières molécules (prométhazine –Phénergan ®, chlorphéniramine – Polaramine ®) par le fait qu'ils ne traversent que peu, ou pas la barrière hématoméningée, diminuant ainsi les effets secondaires centraux comme la somnolence.

Par ailleurs, les molécules de deuxième génération sont spécifiques des récepteurs H_1, et ne se fixent pas sur les récepteurs α ou β adrénergiques. Ils n'ont ainsi pas d'effet anticholinergique (sècheresse de la bouche, mydriase), comme rapporté avec les molécules de première génération (Simons et Simons, 1994).

La terfénadine s'administre chez l'homme par voie orale, à la dose de 60 milligrammes (mg) deux fois par jour. Elle est très largement absorbée et subit un important effet de premier passage hépatique au cours duquel plus de 99% de la molécule mère va être métabolisée en plusieurs métabolites, dont un dérivé carboxylique actif, la fexofénadine (figure 6). Cet effet de premier passage explique le fait que lors d'administration « classique » de terfénadine, son dosage dans la circulation systémique est très difficile, voire impossible avec les méthodes analytiques usuelles. Même après l'administration d'une dose élevée (240 mg plusieurs fois par jour), la concentration plasmatique de la molécule mère ne dépasse pas 10 ng/ml chez des sujets normaux. Les enzymes impliquées dans ce métabolisme sont des cytochromes P 450, et notamment le cytochrome P 450 3A4 (CYP3A4) (Yun et coll., 1992).

L'effet antiallergique est maximum environ 4 heures après la prise par voie orale de 60 mg de terfénadine. La demi-vie de la terfénadine est d'environ 17 heures, et l'élimination est fécale (60 %) et urinaire (40 %) (Mc Tavish et coll., 1990).

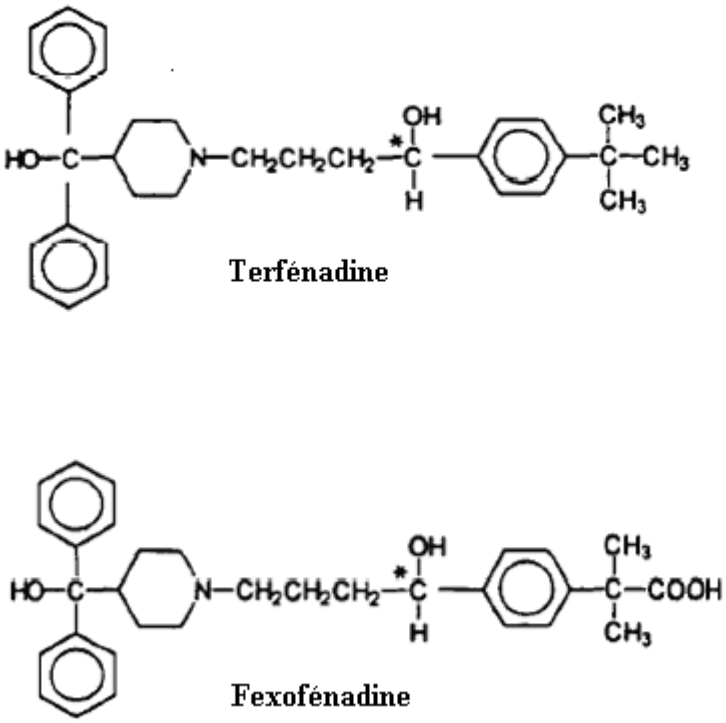


Figure 6 : Structure chimique de la terfénadine et de son métabolite actif, la fexofénadine

IV.2- Cardiotoxicité de la terfénadine

Cependant, malgré les avantages de la terfénadine par rapport aux molécules de première génération, elle a été retirée du marché en 1998.

En effet, une cardiotoxicité a été mise en évidence après plusieurs cas d'apparition d'allongements de l'intervalle QT et de torsades de pointes (figure 7) suite à l'administration de terfénadine (Monahan et coll., 1990 ; Honig et coll., 1992 ; Zimmermann et coll., 1992, Woosley et coll., 1993 ; Benton et coll., 1996.).

La majorité des cas d'accident cardiaque après administration de terfénadine rapportés à la Food and Drug Administration est associée à la présence d'un facteur de risque ou à une interaction médicamenteuse (Woosley et coll., 1993).

Parmi les facteurs de risque, les anomalies pouvant affecter la repolarisation cardiaque telles que des désordres métaboliques (hypokaliémie), l'insuffisance cardiaque ou le syndrome d'allongement de QT congénital, ou des anomalies affectant le métabolisme hépatique (cirrhose, insuffisance hépatique ou alcoolisme) sont mentionnées.

Des interactions médicamenteuses apparaissent lors de certaines associations. Des cas ont été rapportés lors d'administrations concomitantes avec les macrolides comme l'érythromycine (Honig et coll., 1992) et les antifongiques, plus particulièrement le kétoconazole (Monahan et coll., 1990 ; Zimmermann et coll., 1992). Jurima-Romet et coll. ont effectivement montré que le métabolisme hépatique de la terfénadine est inhibé par l'administration concomitante de ces molécules : une accumulation de la terfénadine non métabolisée dans l'organisme survient alors (Jurima-Romet et coll., 1994). Sa concentration plasmatique peut atteindre des valeurs de 57 ng/ml, malgré l'administration à une dose thérapeutique (Monahan et coll., 1990). Des modifications du tracé ECG, avec un allongement de l'intervalle QT corrigé (QTc), sont alors observées (Honig et coll., 1992).

Cette accumulation de la molécule mère par défaut de métabolisation serait elle même responsable des effets cardiotoxiques, puisqu'il a été montré que seule la terfénadine et non son métabolite actif possède cette cardiotoxicité (Woosley et coll., 1993 ; Pratt et coll., 1999).

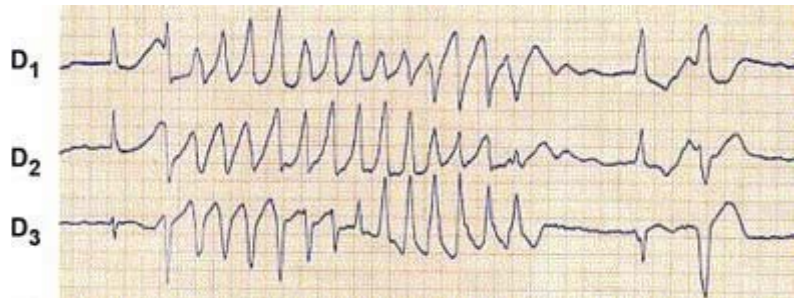


Figure 7 : Torsades de pointes sur les dérivations D1, D2 et D3

(D'après Dumoulin et coll., 2006).

La torsade de pointe correspond à un trouble du rythme ventriculaire rapide (> 250 bpm), disparaissant souvent spontanément mais parfois récidivant, pouvant évoluer en fibrillation ventriculaire, responsable alors d'une mort subite par arrêt cardiaque.

Les manifestations électrocardiographiques sont :

- une accélération du rythme ventriculaire accompagnée d'une variation progressive de l'amplitude et de la polarité des ventriculogrammes autour de la ligne isoélectrique, ce qui donne au tracé une impression de torsion autour de l'axe isoélectrique.
- un allongement de l'intervalle QT lorsque le rythme est redevenu sinusal.

(D'après Bulletin de mai 2003 sur le Médicament du Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament.)

La cardiotoxicité de la terfénadine a été documentée par la suite.

Les études *in vitro* menées sur des cellules myocardiques de cobaye et de rat ont montré que la terfénadine était responsable d'un blocage des canaux potassiques. Sa principale cible est l'Ikr, qui est le canal potassique responsable de la composante rapide du courant sortant rectifié retardé, intervenant en phase 3 de repolarisation du myocyte, c'est-à-dire en phase rapide de repolarisation (Woosley et coll., 1993 ; Berul et coll., 1995, Ducic et coll., 1997). Cet allongement de la durée de repolarisation se traduit sur l'ECG par un allongement de l'intervalle QT (figure 8).

Les études *in vivo* menées sur des chiens et sur des singes ont montré non seulement des effets sur les variables électrophysiologiques mais aussi sur les variables hémodynamiques. L'administration intraveineuse (IV) (pour limiter l'effet de premier passage hépatique) de 3 mg/kg de terfénadine (sur 10 minutes chez le chien et sur 30 minutes chez le singe) provoque des allongements significatifs de l'intervalle QT et de l'intervalle QTc. Les concentrations plasmatiques de terfénadine inchangée sont alors de l'ordre de 90 ng/ml (Usui et coll., 1998 ; Ohmura et coll., 1999). Ces concentrations se rapprochent de celles observées chez l'homme lorsque des interactions médicamenteuses ont provoqué des épisodes de torsade de pointe (Honig et coll., 1993 – 81 ng/ml lors d'administration concomitante avec du kétoconazole). Par ailleurs, une diminution de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle et de la contractibilité du myocarde ainsi qu'un allongement du potentiel d'action myocardique ont été observés chez le chien.

Nous avons par conséquent choisi d'utiliser la terfénadine dans notre étude car elle présente une cardiotoxicité évidente, qui n'avait cependant pas été révélée par les essais pré-cliniques et cliniques avant sa mise sur le marché. En effet, avant les cas rapportés d'accident cardiaque, il était question de la rendre disponible sans prescription aux USA et en France notamment.

Le but de notre étude a été d'étudier si la méthode d'ECG HR était capable de mettre en évidence les effets cardiotoxiques d'une molécule dont nous savons *a posteriori* qu'elle est effectivement toxique pour la fonction cardiaque, mais qui ne l'était *a priori* pas avant son autorisation de mise sur le marché.

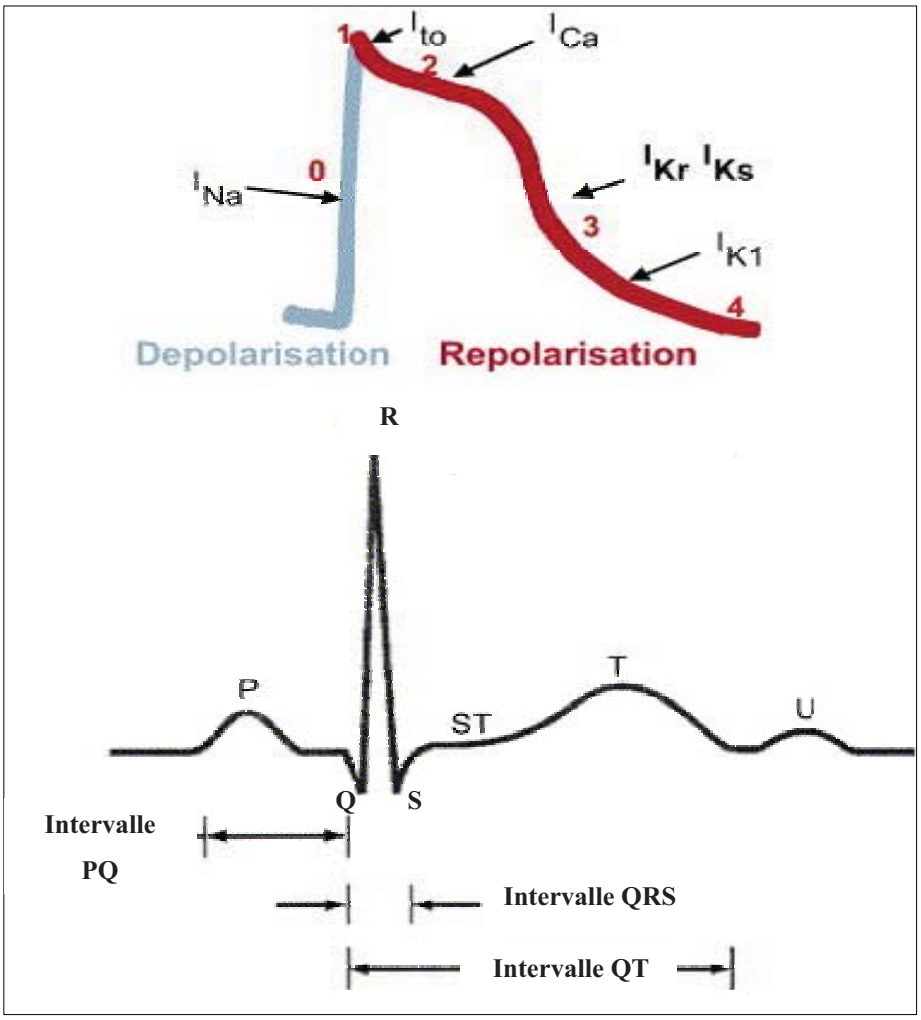


Figure 8 : Relation entre le potentiel d'action myocardique et l'électrocardiogramme (D'après Dumoulin et coll., 2006).

PARTIE EXPERIMENTALE

Le protocole d'étude a été soumis et validé par le Comité d'Ethique Pour l'Animal de Laboratoire (CEPAL) du groupe Sanofi-Aventis de Porcheville.

Cette partie expérimentale a été réalisée en trois phases :

- Une étude préliminaire consistant à la mise au point de la technique de recueil d'ECG HR sous anesthésie générale et à la recherche de la dose de terfénadine à utiliser.
- Une étude principale, consistant en une série d'examens pré-tests, c'est-à-dire sans administration de terfénadine, puis en une série de recueils ECG HR après administration de la dose préalablement déterminée de terfénadine.
- Une étude complémentaire, visant à évaluer les effets de l'anesthésie seule sur l'ensemble des variables électrocardiographiques (ECG et ECG HR).

Après avoir décrit les matériels et les méthodes utilisés dans notre étude (communs à toutes les phases de l'expérimentation), nous détaillerons les résultats des différentes phases de cette partie expérimentale. Nous discuterons enfin les résultats obtenus.

I- MATERIELS ET METHODES

I.1- Animaux

I.1.1- Intérêt de l'utilisation du miniporc

Le miniporc est utilisé en toxicologie en tant qu'alternative au chien et au primate pour les études non rongeurs.

Physiologiquement et anatomiquement, le miniporc présente de nombreuses similitudes avec l'homme (structure de la peau, tractus gastro-intestinal, appareil cardiovasculaire, appareil urogénital, sensibilité aux tératogènes, métabolisme) (Swindle et Smith, 1998).

Les deux espèces ont également en commun un métabolisme hépatique faisant intervenir les cytochromes P450, impliqués dans le métabolisme de la terfénadine (Svendsen, 2007).

Par ailleurs, les variations intra-individuelles de tracés ECG sont plus faibles chez le miniporc que chez le chien (données non publiées, Unité de Diagnostic Clinique - Sanofi-Aventis R&D), ce qui accroît la sensibilité de notre méthode.

Enfin, dans notre étude, le miniporc est très intéressant car sa peau, contrairement à celle du chien, est très adhérente au tissu sous cutané. Cela permet de placer les électrodes rigoureusement au même endroit d'un recueil sur l'autre, à condition d'avoir repéré la zone par une marque (marqueur, tatouage…) et donc de mieux standardiser la méthode.

I.1.2- Origine, caractéristiques et conditions d'entretien

Douze miniporcs de la souche Gottingën ont été utilisés pour cette étude : un premier lot de quatre animaux pour l'étude préliminaire (2 mâles et 2 femelles), et un deuxième lot de huit animaux (4 mâles et 4 femelles) pour l'étude principale. Nous avons réutilisé les huit animaux de l'étude principale pour l'étude complémentaire, après une période de repos de 6 semaines. Les deux lots d'animaux provenaient de l'élevage d'Ellegaard (DK-4261 Dalmose, Danemark). A leur arrivée, les animaux étaient âgés d'un peu plus de quatre mois (donc à maturité sexuelle) ; ils pesaient entre 8.0 et 9.5 kg. Tous les animaux étaient identifiés par une

boucle auriculaire placée à l'oreille droite. Les numéros d'identification de tous les miniporcs sont rassemblés dans l'annexe 1.

Les miniporcs proposés par l'élevage n'étaient pas SPF (Specific Pathogen Free) car ils n'étaient pas obtenus par hystérectomie aseptique, mais par mise-bas naturelle (contamination par *Candida albicans)*. Leur qualité sanitaire était cependant certifiée par l'éleveur (annexe 2).

Un examen clinique ainsi qu'un examen électrocardiographique des animaux ont été réalisés à leur arrivée: aucune anomalie n'a été détectée.

Les animaux étaient logés dans des box individuels de 190 cm x 170 cm (soit 3.23 m^2) dont le sol était recouvert de copeaux de bois dépoussiérés, nettoyés quotidiennement et changés trois fois par semaine.

La température de la pièce était maintenue à 19 ± 1°C, l'hygrométrie était de 55 ± 15%. L'air était renouvelé à raison de 10 à 15 volumes par heure, et les animaux étaient éclairés pendant 12 h (150 à 400 lux).

Les animaux étaient nourris deux fois par jour avec un aliment standard (ref. 811586 SMP(E) SQC, SDS Dietex France, St Gratien, France), en quantité déterminée en fonction de leur poids corporel et de l'eau chlorée et filtrée était distribuée à volonté au moyen de pipettes.

Le milieu était enrichi par des ballons leur permettant les mouvements de fouissage.

A leur arrivée sur le site, les animaux ont été soumis à une période d'acclimatation d'une durée de 21 jours, conformément à la réglementation en vigueur, période durant laquelle aucune manipulation n'a été réalisée. Nous avons cependant été autorisés à habituer les animaux à être placés dans le hamac de contention, afin que leur stress soit diminué lors des manipulations.

I.1.3- Préparation de l'animal

I.1.3.1- Contention mécanique

Il était important que les animaux soient positionnés de manière à obtenir une relaxation musculaire optimale, et dans une position physiologique, pour ne pas augmenter leur stress.
Pour cela, nous avons opté pour une contention dans un hamac en cuir (photo 1), présentant 4 ouvertures pour les membres, soutenu par des armatures métalliques, et dont la hauteur était

réglable (commodité pour le manipulateur, diminution du stress des animaux en leur permettant de maintenir un contact entre leurs membres et le support…).

Le hamac était équipé de lampes chauffantes, indispensables pendant l'examen, pour éviter une baisse trop importante de la température corporelle pendant l'anesthésie.

I.1.3.2- Contention chimique

Afin d'éviter toute activité électrique « parasite » liée aux mouvements de l'animal et pouvant interférer avec les mesures ECG HR, une anesthésie à l'isoflurane (Aérane ®, Baxter, Maurepas, France) a été réalisée.

Ce choix a été conforté par les observations précédentes (Sébille, 1997 ; De Barbeyrac, 2004), testant plusieurs protocoles : de nombreux essais ont été réalisés (tilétamine-zolazepam, xylazine-kétamine, kétamine-médétomidine, anesthésies locales, ou simple sédation avec de la morphine et du diazepam), mais des problèmes survenaient à chaque fois (arythmies, anesthésie trop courte pour réaliser la totalité des enregistrements, excitabilité des animaux…).

Aucune prémédication (avec de l'atropine, notamment) n'a été retenue, contrairement à ce qui est préconisé dans cette espèce (Svendsen, 1997), pour éviter les polymédications et limiter les effets cardiovasculaires.

Une induction de l'anesthésie au masque, avec un volume d'oxygène de 1.5 litres/minute contenant 5 % d'agent anesthésique, était réalisée pendant environ 10 minutes.

Lorsque la profondeur anesthésique était jugée convenable (évaluation de la fréquence respiratoire, de la fréquence cardiaque, tonus de la mâchoire), l'animal était intubé avec une sonde de 5 millimètres de diamètre, à laquelle était branché un circuit anesthésique non réinhalatoire, type circuit de Bain pour assurer le maintien de l'anesthésie. Le taux des vapeurs d'anesthésique était alors descendu à 2.5 %. Le tuyau d'évacuation des gaz expiratoires était relié à une cartouche d'extraction d'halogénés, afin d'assurer la sécurité des manipulateurs.

L'animal était à jeun depuis la veille au soir le jour de l'anesthésie, mais son accès à l'eau n'était pas restreint.

Dans l'étude principale, la durée totale de l'anesthésie était d'environ 45 minutes pour les prétests, et de 2 heures 15 pour les tests.

A la fin de l'examen, l'arrivée d'anesthésique volatil était coupée et les différentes électrodes débranchées. Le réveil de l'animal était effectif lorsque celui-ci s'extubait spontanément, au

bout d'environ 5 à 10 minutes. La phase de réveil se déroulait dans le hamac, afin d'assurer une meilleure surveillance de l'animal. Le protocole anesthésique retenu permettait une phase de réveil très calme. L'animal était ramené dans son box lorsqu'il tenait debout.

I.1.3.3- Mise en place des électrodes

Pour les enregistrements ECG HR, des électrodes néonatales autocollantes (électrodes Kendall Arbo ®, Tyco Healthcare, Neustadt a.d. Donau, Allemagne), moins traumatisantes que les aiguilles hypodermiques utilisées en routine chez le chien, ont été utilisées : en effet, les miniporcs présentent une plus grande sensibilité cutanée. Leur mise en place et leur bonne tenue sur toute la durée de l'examen nécessitaient, avant chaque examen, un rasage et un dégraissage soigneux de la peau.

La position des électrodes (tableau 4 et figure 9) suit les recommandations données par Tilley (Tilley, 1992).

Tableau 4 : Emplacement des électrodes pour l'enregistrement ECG HR chez le miniporc
T7 : 7ème vertèbre thoracique

Electrode	Emplacement
X+	4ème côte, mi thorax, côté gauche
X-	Projection de X+, à droite
Y+	Manubrium sternal
Y-	Processus xyphoïde
Z+	Position médio dorsale, au niveau de T7
Z-	Projection de Z+, sur la ligne médio ventrale
Neutre	Cuisse droite

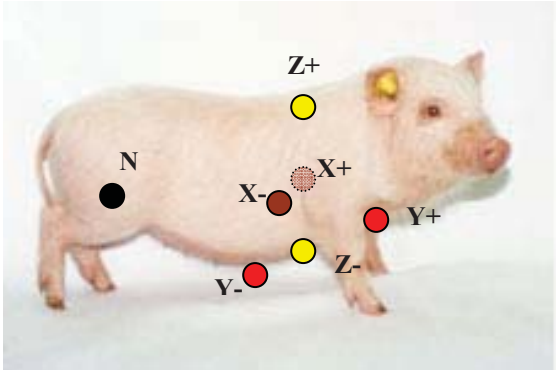


Figure 9 : Illustration des emplacements des électrodes pour l'enregistrement ECG HR chez le miniporc

Afin d'assurer un maximum de reproductibilité, la place des électrodes était tatouée à l'issue du premier examen avec un dermographe.

Des pinces crocodile, ou des aiguilles hypodermiques (en dernier recours, lorsque survenaient des problèmes de contact) ont été utilisées en guise d'électrodes pour les recueils d'ECG standard.

I.1.3.4- Mise en place du cathéter intraveineux

L'administration en bolus intraveineux (IV) aurait présenté un risque pour l'animal, à cause des doses importantes utilisées : la mise en place d'un cathéter IV (Surflo ® 24G, 0.7 x 19 mm, Terumo, Guyancourt, France) était donc indispensable pour permettre une administration IV lente. En accord avec les recommandations dans cette espèce, la veine marginale de l'oreille a été cathétérisée. Lorsque le cathétérisme de la veine marginale de l'oreille s'avérait impossible (endothélium irrité par une administration précédente, veine pas assez visible…), la veine saphène externe était alors utilisée.

I.2- Terfénadine

I.2.1- Mise en solution de la terfénadine

La solution de terfénadine a été préparée dans le laboratoire de pharmacie du site de Sanofi-Aventis Porcheville de façon extemporanée chaque jour de manipulation.

La concentration de la solution était de 4 mg/ml, afin de minimiser le volume à administrer, en raison du faible diamètre de la veine cathétérisée.

Un excipient aqueux à base d'hydroxypropylβcyclodextrine, facilitant la dissolution de la terfénadine, a été utilisé. Par ailleurs, l'excipient était acidifié de manière à produire un sel de terfénadine, plus soluble dans l'eau.

Lorsque la cyclodextrine était totalement dissoute dans l'eau et l'excipient acidifié, la poudre de terfénadine était ajoutée, puis le bêcher ayant servi à la reconstitution était laissé sous agitation magnétique pendant environ 45 minutes, temps nécessaire à la dissolution totale de la terfénadine.

Après complète dissolution de la terfénadine dans son excipient, la solution était transvasée dans un flacon stérile à travers un filtre de 0.22 micromètres. Cette opération était réalisée sous hôte à flux laminaire, selon la procédure en vigueur dans le laboratoire de pharmacie.

I.2.2- Administration de la terfénadine

L'administration en IV lente de la terfénadine se faisait à l'aide d'un pousse seringue électrique (Modèle programme 2, Becton Dickinson France, Pont de Claix, France, photo 1), dont le débit était réglé en fonction de la quantité à administrer, elle même fonction du poids de l'animal. Les animaux étaient systématiquement pesés avant chaque manipulation.

La seringue (50 ml, Omnifix, Braun, Boulogne, France) contenant la solution de terfénadine était reliée au cathéter intraveineux par un prolongateur (prolongateur unitube, Braun, Boulogne, France) préalablement rempli avec la solution de terfénadine.
Le pousse seringue permettait de contrôler précisément la quantité de solution administrée, ainsi que le temps d'administration.

Lorsque la totalité de la dose était injectée, l'appareil était arrêté, la seringue était débranchée du cathéter, la veine était « rincée » en administrant quelques millilitres de chlorure de sodium isotonique (0.9%). Le cathéter était ensuite retiré de la veine et un pansement était mis en place.

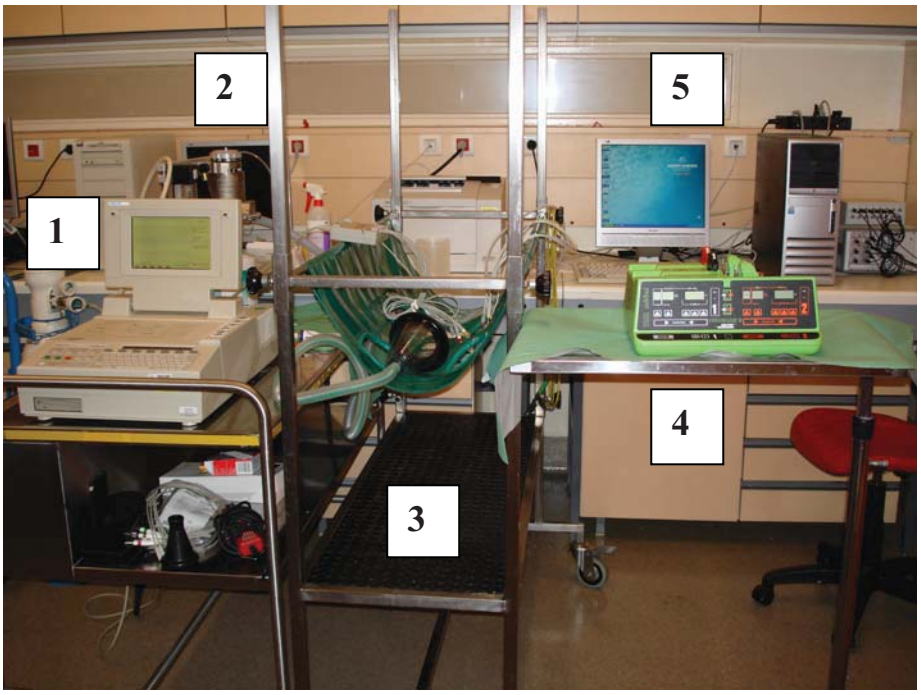


Photo 1 : Organisation de l'espace de travail pour les enregistrements d'ECG HR et d'ECG lors de l'administration intraveineuse de la terfénadine

1 : Appareil ECG HR
2 : Circuit anesthésique
3 : Hamac de contention
4 : Pousse seringue électrique
5 : Ordinateur équipé du logiciel de recueil d'ECG

I.3- Appareils et méthode de recueil des signaux électrocardiographiques

I.3.1- Recueils d'électrocardiographie standard

Le recueil d'ECG standard a nécessité des électrodes (pinces crocodiles ou aiguilles hypodermiques), reliées à l'ordinateur équipé du module d'acquisition IOX (EMKA technologies, Paris, France). L'affichage simultané des trois dérivations (photo 2) permettait d'apprécier la qualité des contacts : lorsque les tracés étaient jugés de qualité satisfaisante, il était possible d'enregistrer l'ECG, pour une durée variable dépendant des besoins de la manipulation.

L'analyse des enregistrements était réalisée ultérieurement à l'aide du logiciel Ecg-Auto (EMKA technologies, Paris, France). Il s'agissait d'un logiciel de lecture par apprentissage, comparant tous les complexes de l'ECG avec des complexes de référence préalablement regroupés dans une bibliothèque numérique.

Le logiciel fournissait ensuite un rapport d'analyse faisant apparaître des complexes moyens, pour une durée déterminée par les besoins de la manipulation (en général, 1 minute). De nombreuses informations étaient disponibles pour ces complexes moyens, telles que les amplitudes des ondes et la durée des différents intervalles. Dans notre étude, la fréquence cardiaque, la durée du complexe QRS et la durée des intervalles QT et QT corrigé par la formule de Fredericia (QTcF) ont été retenues.

Il était possible, avec IOX, d'arrêter, puis de reprendre l'enregistrement à tout moment, et d'ajouter des commentaires pendant l'enregistrement, permettant notamment de situer les moments de début et de fin d'administration de la terfénadine.

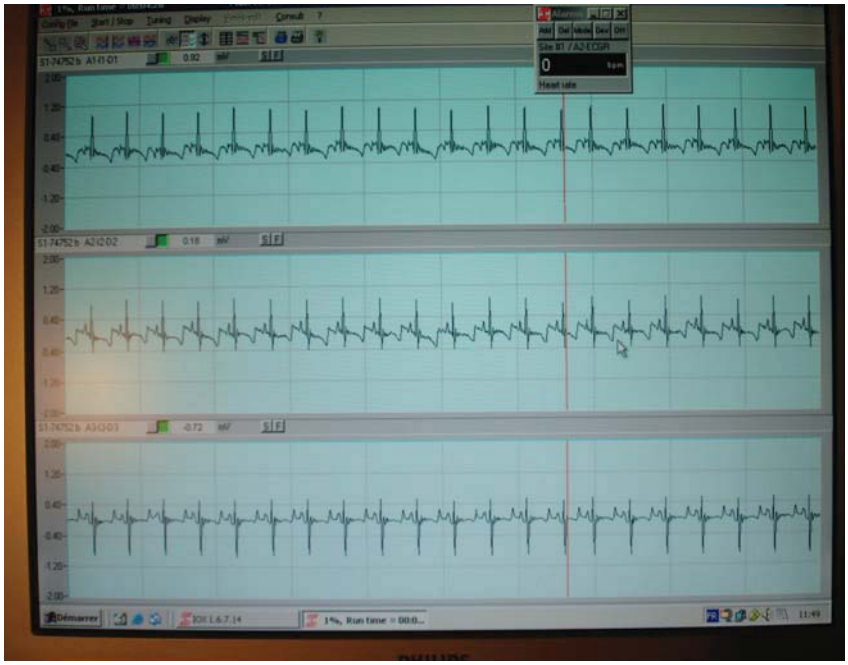


Photo 2 : Affichage des trois dérivations ECG sur l'écran de l'ordinateur équipé du module d'acquisition IOX

I.3.2- Recueils d'électrocardiographie haute-résolution

I.3.2.1- L'appareil

Un électrocardiographe de modèle Pagicardiette M1700AXLi équipé d'un système de moyennage des signaux HP M1754A et d'un filtre bidirectionnel a été utilisé (Hewlett Packard, Nexon, PA, USA).

L'appareil a été configuré comme préconisé chez l'homme (Breithardt et coll., 1991) : le boîtier amplificateur possédait un gain fixe de 10000 pour des valeurs de fréquences comprises entre 0.05 et 300 Hz (pré-filtrage).

Des câbles blindés (constituant une protection supplémentaire contre les courants parasites) assuraient la transmission du signal analogique vers le système de traitement. Il était alors numérisé, à une fréquence d'échantillonnage de 2000 Hz et une résolution de 16 bits.

Il était possible de choisir la valeur passe-haut de la bande passante du filtre bidirectionnel : une valeur de 40 Hz a été retenue, selon les recommandations issues des différentes études montrant la pertinence de cette valeur (Denes et coll., 1983 ; Gomes et coll., 1987a).

L'appareil ECG HR était équipé d'un écran d'affichage et d'un clavier alphanumérique, permettant de suivre l'évolution de l'examen et, au besoin, d'interrompre l'examen ou de rectifier un éventuel problème.

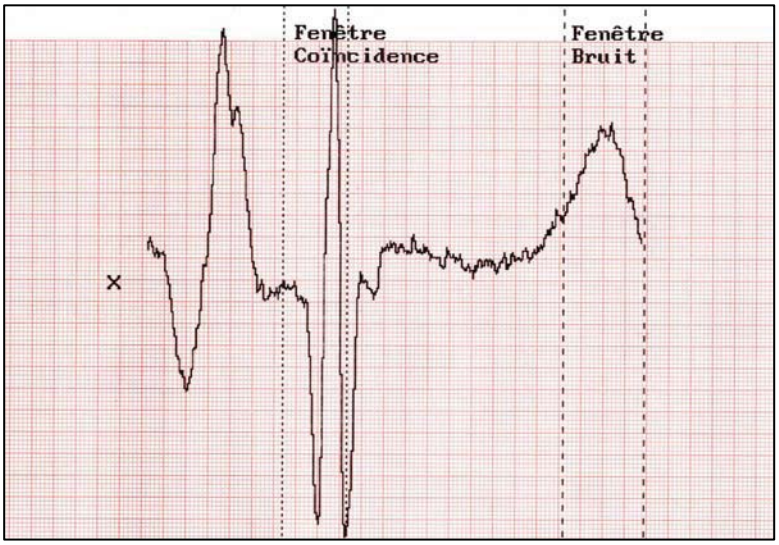
I.3.2.2- Obtention d'un signal moyenné et filtré

Le temps nécessaire à la préparation de l'animal (induction, intubation, préparation de la peau et mise en place des électrodes) était toujours à peu près identique d'un examen sur l'autre. Il s'écoulait environ 25 minutes entre le début de l'induction et les premiers recueils : les animaux étaient ainsi dans le même état anesthésique, c'est-à-dire stabilisés.

La mise sous tension de l'appareil avant la mise en place des électrodes permettait de vérifier la qualité du signal au fur et à mesure de la mise en place de celles-ci, sur l'écran du boîtier amplificateur prévu à cet effet. Les données relatives à l'examen (numéro d'identification et sexe de l'animal, numéro de l'étude, nom du fichier) étaient entrées à l'aide du clavier alphanumérique. Avant de démarrer l'enregistrement, les appareils électriques (ordinateurs, moniteurs, imprimantes…) non indispensables à la manipulation et les néons de la salle étaient éteints, de sorte à ne laisser allumées que les lampes chauffantes du hamac (réduction des courants parasites).

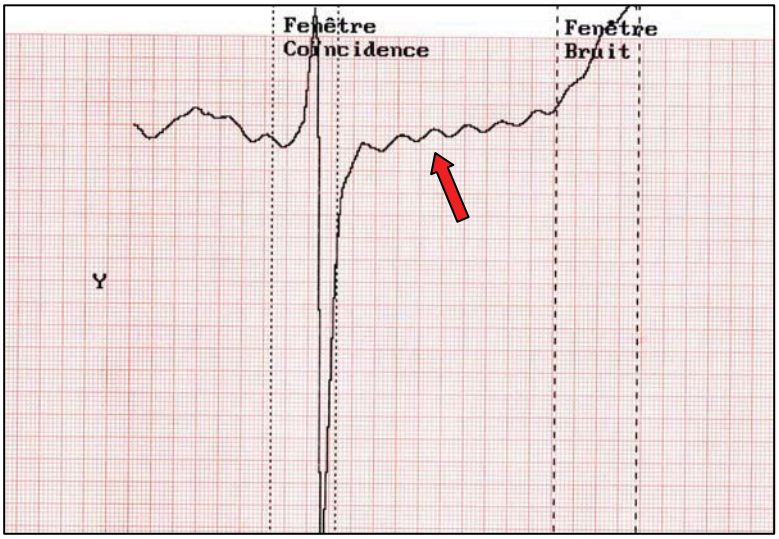
L'enregistrement était alors démarré. Les trois dérivations apparaissaient à l'écran, permettant de vérifier que les contacts étaient corrects pour l'ensemble des dérivations. Puis, l'appareil proposait un complexe de référence auquel allaient être comparés les complexes pour le moyennage. L'opérateur avait la possibilité de choisir le complexe sur une des trois dérivations, s'affichant une à une sur la totalité de l'écran : le complexe semblant le moins parasité et possédant la plus grande amplitude était ainsi retenu (figure 10).

Sur ce complexe, l'opérateur plaçait deux fenêtres, d'une durée de 40 ms chacune : la « fenêtre de coïncidence », contenant le point fiduciel (onde R) et la plus grande déflexion du complexe, et la « fenêtre de bruit », se trouvant dans le segment ST, juste avant l'onde T, sur la ligne isoélectrique. Ces deux fenêtres constituaient les points de comparaison que l'appareil allait utiliser lors du moyennage, pour déterminer si les nouveaux complexes devaient, ou



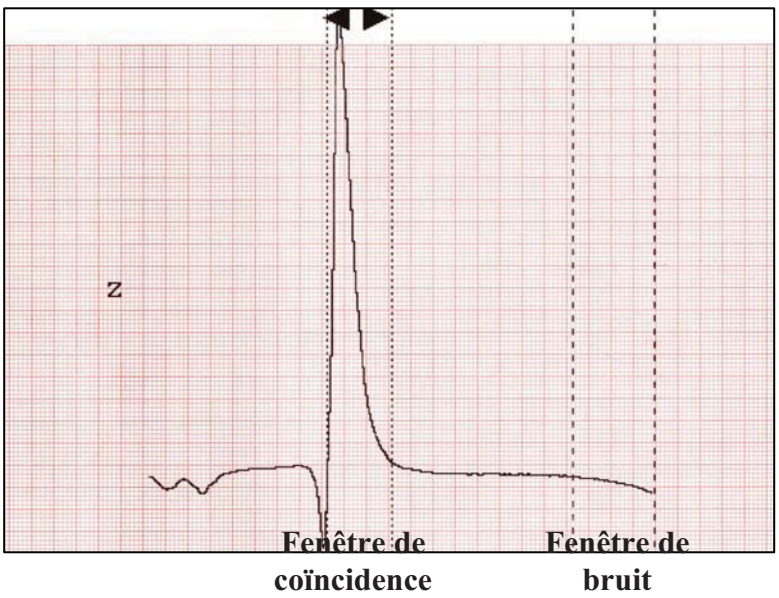
A :

Exemple d'un complexe proposé par l'appareil ne constituant pas un complexe satisfaisant pour le choix de référence (nombreux parasites, amplitude faible).



B :

Exemple d'un complexe proposé par l'appareil parasité par des interférences électriques (50 Hz) apparaissant sous forme d'oscillations visibles sur la ligne de base (flèche).



C :

Exemple d'un complexe très satisfaisant pour le choix du complexe de référence. La fenêtre de coïncidence est correctement placée, la fenêtre de bruit est un peu trop proche de l'onde T (qui n'est pas visible ici) et mérite d'être décalée vers la gauche.

Figure 10 : Choix du complexe de référence

non, être retenus pour le moyennage : ainsi, un complexe présentant moins de 98% de corrélation avec le complexe de référence était rejeté.

Le moyennage des battements commençait alors. L'affichage à l'écran du moyennage en cours permettait de suivre le pourcentage de complexes retenus, ainsi que la diminution du bruit. L'expérience a montré que si après 15 complexes moyennés, le niveau de bruit n'était pas inférieur à 2 μv, l'obtention d'un bruit de fond résiduel de 0.4 μv aurait été trop long à obtenir, nuisant à la qualité du recueil. Dans ces cas là, l'enregistrement était interrompu, et l'ensemble du système vérifié : en général, la principale cause de ce genre de problème étaient les fils d'alimentation des lampes chauffantes, non blindés, et passant trop près de l'animal. Un repositionnement de la lampe permettait de résoudre le problème.

Lorsque le niveau de bruit avait atteint 0.4 μv, le moyennage s'interrompait automatiquement, et le filtrage des battements était effectué. L'opération prenait quelques minutes, et était d'autant plus longue que le nombre de complexes moyennés était important, d'où l'intérêt d'avoir un bruit de fond le plus faible possible avant le début de l'examen.

I.3.2.3- Analyse et impression du rapport

Après le filtrage, l'appareil affichait à l'écran les données traitées : les complexes filtrés des trois dérivations, ainsi que le vecteur amplitude, pouvaient être affichés successivement. Pour chaque complexe filtré (dérivation X, Y, Z et vecteur), l'appareil proposait des limites de début et de fin du complexe QRS, ainsi que les valeurs des variables d'analyse QRSf, RMS, RMS40 et LAS 40. Un repositionnement manuel des limites à l'aide du curseur était en général nécessaire, car les algorithmes utilisés pour l'homme correspondent mal à ceux pour l'animal : ceci peut notamment être expliqué par le fait que l'on s'intéresse, avec cet appareil, aux 40 dernières millisecondes du complexe QRS, ce qui est pertinent chez l'homme, chez lequel le complexe QRS dure environ 60-80 ms, mais beaucoup moins chez le miniporc ou chez le chien, chez lesquels la durée du complexe est proche de 40 ms.

Cette correction se faisait en modifiant l'échelle du complexe, de manière à grossir au maximum ces zones limites pour en faciliter la détection.

Le placement des limites était tout à fait subjectif. Pour cette raison, il était important que le même opérateur procède à l'analyse des tracés sur une série d'enregistrements et réagisse toujours de la même manière sur une série d'enregistrements, face, par exemple, à une déflexion douteuse : si l'opérateur décidait d'inclure cette déflexion au signal lors d'un premier enregistrement, et si cette déflexion apparaissait lors des enregistrements suivants,

elle devait alors être incluse dans le signal. Cela était le cas dans notre étude car un seul opérateur réalisait les enregistrements ECG HR ainsi que l'analyse des tracés.
Une fois les limites déterminées, le rapport était imprimé (annexe 3), puis mémorisé sur une disquette.

La durée de recueil variait d'un enregistrement à l'autre : elle dépendait du nombre de battements nécessaire pour atteindre le niveau de bruit imposé, de la rapidité avec laquelle l'opérateur choisissait son complexe de référence, des interférences électriques, qui pouvaient varier d'un enregistrement à l'autre…. En règle générale, les enregistrements complets entre le lancement et l'impression du rapport, duraient entre 2 et 4 minutes.

I.4- Analyses statistiques des données

I.4.1- Variabilité du modèle évaluée sur les pré-tests

Le reflet de la variabilité des mesures est classiquement exprimé par le coefficient de variation, qui est le rapport de l'écart-type sur la moyenne pour un paramètre donné. Pour permettre la meilleure évaluation possible des coefficients de variation, le calcul n'a pas été réalisé sur les valeurs "directes" car il aurait alors représenté uniquement les valeurs expérimentales. Pour augmenter la représentativité de ces informations, les données ont été analysées avec le modèle général linéaire suivant :

$$y_{jkl} = \mu + Semaine_j + Animal_l + \varepsilon_{jkl}$$

où le paramètre Y est obtenu par une combinaison de la moyenne empirique 'μ', des effets 'Semaine' ($semaine_j$), 'Animal' ($animal_l$) et de l'effet résiduel ε. j est l'indice de semaine (1 à 3), i est l'indice de l'animal (1 à 8) et k est l'indice du numéro d'enregistrement (1 à 3).
L'effet du numéro d'enregistrement n'est pas testé statistiquement ici mais seulement assimilé à l'erreur résiduelle. En effet, parmi les différentes composantes de cette erreur résiduelle, la variabilité biologique (variation d'une mesure à l'autre pour un animal donné lors d'une semaine de test donnée) est la composante majoritaire. Ne pas prendre en compte le numéro

d'enregistrement reviendrait à considérer cette erreur comme constante pour un animal et une semaine donnée.
Ainsi, y_{213} désigne le premier enregistrement de la 2^e semaine du 3^e animal, qui est obtenu comme un composé de la moyenne générale (μ), de l'effet "Semaine" pour "semaine 2" et de l'effet "Animal" pour "Animal 3".

Le modèle général linéaire permet de calculer facilement les sommes et moyennes des carrés des écarts des différentes composantes (intra-animal [qui est évalué par la résiduelle ε], inter-semaine intra-individuelle, inter-animal) et d'en déduire les variances, les écart-types et donc les coefficients de variations.

I.4.2- Détermination des limites de valeurs normales pour chaque animal

Les valeurs des pré-tests ont été utilisées pour déterminer des seuils de valeurs normales pour chaque animal. Dans ce but, la variance moyenne des valeurs d'une variable donnée a été calculée sur l'ensemble des animaux (en utilisant le modèle mentionné ci-dessus, et en utilisant la variance totale). Nous avons pu estimer un écart-type "moyen", tenant compte de la variabilité inter-animale et inter-semaine, pour chaque variable. Pour un animal donné, nous avons appliqué trois fois cette valeur à la moyenne des valeurs obtenues par cet animal lors des pré-tests, obtenant ainsi les bornes à $\pm$ 3 écart-type, permettant de définir un intervalle de prédiction (à 99%). Il s'agissait en fait, pour chaque variable, d'appliquer un intervalle de fluctuations commun à tous les animaux, mais centré sur la moyenne de chaque animal obtenue lors des pré-tests pour cette variable (en raison de la grande variabilité inter-animale, cf. infra).

I.4.3- Tests avec administration de terfénadine

I.4.3.1- Evaluation de l'effet de la dose de terfénadine

Lors de l'administration de terfénadine, des enregistrements ont été réalisés toutes les 5 minutes à partir du branchement de la perfusion de terfénadine, et pendant un temps de récupération de 35 à 50 minutes (sur certains animaux, l'hypothermie provoquée par

l'anesthésie ne nous permettait pas d'aller au-delà de 35 minutes de récupération). A chaque enregistrement correspondait une dose de terfénadine effectivement administrée (nous avons retenu la dose effectivement administrée au moment du début de l'enregistrement, moment commun à tous les examens, car la fin de l'enregistrement variait d'un enregistrement à l'autre).

L'analyse des effets de la dose de terfénadine a été réalisée au moyen du modèle général linéaire suivant :

$$y_{jkl} = \mu + \text{Semaine}_j + \text{Temps}_k + \text{Animal}_l + \varepsilon_{jkl}$$

où le paramètre Y est obtenu par une combinaison de la moyenne empirique 'μ' et des effets 'Semaine' (semaine_j), 'Animal' (animal_l) et 'Temps' (temps_k) qui correspond au temps d'injection (soit à une dose de terfénadine effectivement injectée). j est l'indice de semaine de test (1 à 3), k est l'indice du temps d'enregistrement (1 à 20) et l est l'indice de l'animal (1 à 8).
Pour chaque variable, chacune de ses valeurs moyennes (moyenne de tous les animaux et de tous les tests) enregistrée pour chaque temps d'enregistrement a été comparée à une valeur de référence. Cette valeur de référence a été obtenue en calculant la moyenne de l'ensemble des valeurs recueillies avant administration sur tous les animaux sur l'ensemble des trois tests. Pour chaque temps d'enregistrement, la différence entre la valeur de la variable et la valeur de référence a été évaluée par un test de Dunnett. Le test était statistiquement significatif quand P était inférieur à 0.05.

Cette approche ne tenait compte que des valeurs moyennes (pour tous les animaux et tous les tests) des variables à chaque temps d'enregistrement. Les différences statistiquement significatives sur les différentes variables pouvaient être observées dans plusieurs cas de figure :

- soit tous les animaux montraient des variations significatives, sur chacun de leur test
- soit quelques animaux montraient, de manière inconstante sur leurs trois tests, d'importantes variations provoquant un effet moyen significatif.

Cette deuxième hypothèse n'aurait pas été très intéressante pour la reproductibilité des effets de la terfénadine sur les différentes variables ECG HR.

C’est pourquoi l’approche suivante, basée sur la comparaison de toutes les valeurs enregistrées lors des tests avec les valeurs normales de chaque animal a été envisagée

I.4.3.2- Effet de la terfénadine sur les variables d’électrocardiographie haute-résolution de chaque animal et sur chacun de ses tests

Cette dernière approche a permis de suivre l’évolution de toutes les variables pour chaque animal pour chacun de ses tests (test 1 à test 3), pour tous ses temps d’enregistrement avant l’administration de la terfénadine et pendant l’administration et la période de récupération.

Pour chaque animal et pour chacune des variables, la totalité des valeurs enregistrées au cours de chaque examen a été située par rapport à son intervalle de fluctuations. Les valeurs des variables enregistrées sortant de l’intervalle de fluctuation ont ainsi pu être mises en évidence pour chaque temps d’examen. Ces valeurs « hors normes » pouvaient être supérieures à la valeur supérieure de l’intervalle de fluctuation (pour le QRSf et le LAS 40) ou inférieures à la limite inférieure de l’intervalle (pour le RMS et le RMS 40).
Dans notre étude, la présence de PVT a été admise lorsque les quatre variables étaient hors normes.

I.4.4- Evaluation de l’effet de la durée de l’anesthésie dans l’étude complémentaire

Le même modèle général linéaire que celui utilisé pour l’évaluation de l’effet de la dose de terfénadine a été utilisé pour évaluer les effets de la durée de l’anesthésie dans l’analyse complémentaire. Pour chaque temps d’enregistrement, la différence entre la valeur de la variable et la valeur de référence a été évaluée par un test de Dunnett.

Nous avons travaillé par tranches horaires de 10 minutes, avec un enregistrement réalisé toutes les 10 minutes pendant une période de 145 minutes d’anesthésie.

La valeur de référence à laquelle ont été comparées toutes les valeurs moyenne pour tous les animaux à chaque temps d’enregistrement a été calculée à partir de la moyenne des premiers enregistrements disponibles au cours de l’anesthésie (c'est-à-dire, l’enregistrement démarré à 15 minutes post-induction de l’anesthésie).

II- ETUDE PRELIMINAIRE : MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE ET CHOIX DE LA DOSE DE TERFENADINE

Cette étude préliminaire a été réalisée dans le but de définir la dose de terfénadine à administrer dans l'étude principale. Un premier lot de quatre animaux a été utilisé (annexe 1).

Au cours de cette étude, notre méthode a été mise au point : pour remédier aux difficultés techniques rencontrées, les conditions d'examens variaient souvent d'un animal à l'autre. Par conséquent, aucune analyse statistique n'a été réalisée à cause de ces différences dans la réalisation des examens, et du trop faible nombre d'animaux disponibles.

II.1- Objectifs de l'étude

Dans les études de toxicologie générale, l'étude de l'intervalle QT sur l'ECG est utilisée pour évaluer le risque pro-arythmique d'une molécule en développement, mais représente un marqueur assez peu fiable chez l'animal, et particulièrement chez le chien, qui peut présenter des variations spontanées pouvant aller jusqu'à 20% (données non publiées, Unité de Diagnostic Clinique - Sanofi-Aventis R&D). Dans cette optique, nous avons testé la capacité de l'examen ECG HR à mettre en évidence ce risque pro-arythmique d'une molécule, et nous avons aussi cherché à savoir si cet examen, également non invasif, apportait des informations supplémentaires par rapport à celles obtenues par l'appréciation de l'intervalle QT, et si les effets mis en évidence par l'ECG HR survenaient plus précocement que l'allongement de l'intervalle QT.

Dans cette étude préliminaire, nous avons testé plusieurs doses décroissantes de terfénadine, afin de trouver une dose pour laquelle la terfénadine provoquait des effets ECG HR, avec un effet minimum sur l'ECG (plus particulièrement sur la durée de l'intervalle QT).

II.2- Protocole expérimental

L'effet de la dose et celui de la durée d'administration de la terfénadine sur les différentes variables électrocardiographiques (ECG et ECG HR) ont été évalués.

Le premier effet a été appréhendé en administrant des doses décroissantes de terfénadine, sans faire varier la durée d'injection.

Une première dose de 7 mg/kg a été administrée sur une période de 30 minutes (choix basé sur une étude interne non publiée) aux quatre animaux. Nous avons comparé l'évolution des variables ECG nous semblant pertinentes (FC, QRS, QT, QTcF) entre un temps T0 (dernière valeur enregistrée avant le début de l'administration) et le temps 30 minutes (T 30), c'est- à- dire après administration totale de la dose. Par ailleurs, des recueils ECG HR ont été réalisés sur deux des quatre animaux pendant l'administration afin de vérifier que la terfénadine provoquait bien des effets. Comme la dose de départ était très élevée, elle a été diminuée par la suite afin d'atténuer les effets ECG.

Une dose de 5 mg/kg de terfénadine a été administrée sur une période de 30 minutes, en réalisant un suivi ECG en continu ainsi que des recueils d'ECG HR pendant toute la durée de l'administration sur les quatre animaux (des problèmes électriques nous ont empéché d'obtenir un enregistrement ECG sur l'animal n° 95815). Un suivi de l'évolution des variables électrocardiographiques (ECG et ECG HR) en fonction du temps d'administration, donc de la dose de produit effectivement administrée, a été réalisé.

L'effet de la durée d'administration a enfin été évalué en administrant une dose de 4 mg/kg de terfénadine, tout d'abord sur une période de 20 minutes, puis sur une période de 30 minutes, avec un suivi des variables ECG et ECG HR. Ce dernier essai a été réalisé sur deux animaux.

Chaque série de manipulations (essai 7 mg/kg en 30 minutes, 5 mg /kg en 30 minutes, 4 mg/kg en 20 minutes et 4 mg/kg en 30 minutes) était espacée de deux semaines.

II.3- Résultats et choix de dose

- *Administration de 7 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes*

Cette dose, très élevée par rapport à la dose thérapeutique (qui est d'environ 2 mg/kg, *per os*), a effectivement provoqué des perturbations électrocardiographiques (ECG et ECG HR).

Modifications ECG :

Des altérations morphologiques du tracé ECG ont été observées au cours de l'administration de la terfénadine (figures 11a à 11d). Un décalage du segment ST a été noté : il s'agissait aussi bien de sur-décalage que de sous-décalage (figures 12a à 12c).

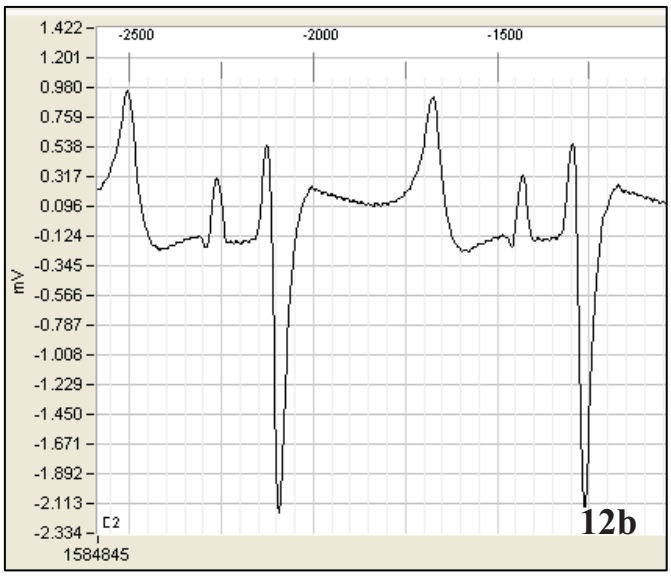
Les valeurs des variables ECG (FC, QRS, QT et QTcF) ont présenté des modifications au cours de l'administration : la fréquence cardiaque a diminué de 34 % en moyenne (- 35 battements par minute, bpm), la durée du QRS a augmenté de 55 % en moyenne (+ 35 ms), le QT a augmenté de 35% en moyenne (+ 140 ms) et le QTcF a augmenté de 20 % en moyenne (+ 92 ms).

La bradycardie, les altérations du QRS, du QT (et du QTc) ainsi que des altérations morphologiques de l'onde T sont observées lors de dyskaliémies (Collet et Le Bobinnec, 1990). Cela concorde avec les observations de Woosley et coll., montrant le mécanisme de blocage des canaux potassiques Ikr de la terfénadine (Woosley et coll., 1993).

.

Figure 11 : Evolution morphologique de l'ECG (D2) d'un animal représentatif pendant l'administration intraveineuse de terfénadine à la dose de 7 mg/kg sur une période de 30 minutes

11a : Tracé réalisé juste avant l'administration de terfénadine
11b : Morphologie de l'ECG au bout de 15 minutes d'administration
11c : Tracé réalisé en fin d'administration
11d : Tracé réalisé après 20 minutes de récupération
En abscisse, le temps en ms
En ordonnée, l'amplitude en mv



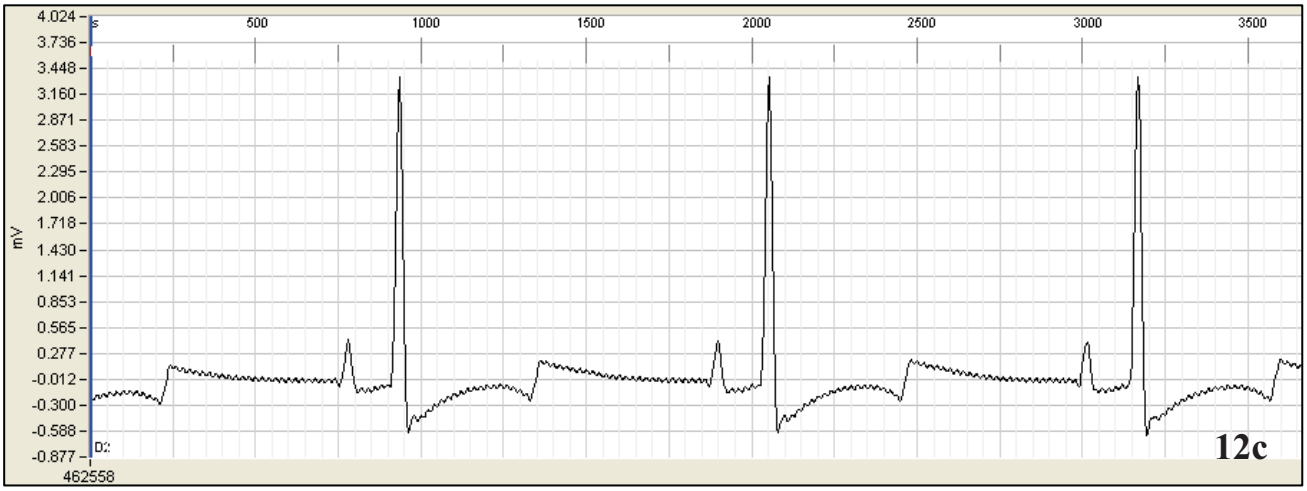


Figure 12 : Visualisation des décalages du segment ST sur l'ECG (D2) provoqués par l'administration intraveineuse de terfénadine à une dose de 7 mg/kg sur une période de 30 minutes

12a : tracé avant l'administration (pas de décalage de ST)

12b : sur décalage du segment ST

12c : sous décalage du segment ST

En abscisse, le temps en ms

En ordonnée, l'amplitude en mv

Modifications ECG HR :

Des enregistrements ECG HR ont également été réalisés sur deux animaux pendant l'administration de 7 mg/kg de terfénadine pendant 30 minutes : les valeurs enregistrées ont aussi révélé des altérations importantes au cours de l'administration de la terfénadine (tableau 5).

Tableau 5 : Variations des variables ECG HR enregistrées chez deux animaux au cours de l'administration de 7 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes

QRSf: Durée totale du complexe QRS filtré (ms) ; **LAS 40**: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts (ms) ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré (µv) ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré (µv) ; **T0**: Temps d'enregistrement juste avant le début de l'administration de la terfénadine ; **T30**: Fin de l'administration intraveineuse de 7 mg/kg de terfénadine.

	QRSf		LAS 40		RMS		RMS 40	
Temps	T0	**T30**	T0	**T30**	T0	**T30**	T0	**T30**
Miniporc 95941	67	**110**	13	**52**	326	**39**	222	**8**
Miniporc 95848	70	**83.5**	19.5	**32**	228	**121**	190	**34**

Ces valeurs, données à titre indicatif, n'ont pas été traitées de manière statistique, mais des variations très importantes de toutes les variables, en faveur du développement de PVT ont été constatées. Bien que des valeurs seuil n'étaient pas disponibles pour cette espèce, les variations nous ont semblé assez importantes pour conclure que la terfénadine provoquait bien des effets évidents et importants sur les variables ECG HR.

Les effets électrocardiographiques (ECG et ECG HR) observés nous ont semblé suffisants pour nous permettre de diminuer la dose de terfénadine.

- *Administration de 5 mg/kg de terfénadine en 30 minutes*

Les résultats sont résumés dans les tableaux 6 et 7.

Tableau 6 : Evolution des moyennes des valeurs des variables ECG au cours de l'administration de 5 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes chez trois animaux*

*: un problème électrique nous a empêché d'obtenir un enregistrement ECG sur l'animal 95815
FC: Fréquence cardiaque (bpm) ; **QRS**: Durée du complexe QRS (ms) ; **QT**: Durée de l'intervalle QT (ms) ; **QTcF**: Durée de l'intervalle QT corrigé par la formule de Fredericia (ms) ; **T0**: Temps d'enregistrement juste avant le début de l'administration de la terfénadine ; **T 1 mg/kg**: Le pousse seringue ayant un débit constant, il est possible de faire la correspondance temps d'injection/ dose injectée : T 1 mg/kg correspond donc au temps d'injection au bout duquel la dose de 1 mg/kg de terfénadine a effectivement été injectée

Temps/Dose	FC	QRS	QT	QTcF
T 0	110.7	56.7	363.0	461.0
T 1mg/kg	111.7	58.3	370.0	454.0
T 2mg/kg	106.7	59.7	389.0	470.3
T 3mg/kg	99.3	66.3	413.7	489.0
T 4mg/kg	92.7	69.3	437.3	503.3
T 5mg/kg	86.7	71.3	452.7	509.0

Tableau 7 : Evolution des moyennes des valeurs des variables ECG HR au cours de l'administration de 5 mg/kg de terfénadine sur une période de 30 minutes chez quatre animaux

QRSf: Durée totale du complexe QRS filtré (ms) ; **LAS 40**: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts (ms) ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré (µv) ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré (µv) ; **T0**: Temps d'enregistrement juste avant le début de l'administration de la terfénadine; **0 à 1 mg/kg**: L'enregistrement ECG HR n'étant pas ponctuel, il est impossible de donner la valeur de la variable pour un temps précis, donc pour une dose précise de terfénadine : dans cet exemple, l'enregistrement est réalisé pendant l'administration d'une dose comprise entre 0 et 1 mg/kg de terfénadine

Temps/Dose	QRSf	LAS40	RMS	RMS40
T 0	64.1	14.3	360.8	288.0
0 à 1 mg/kg	65.0	14.7	354.3	255.0
1 à 2 mg/kg	66.6	15.4	313.0	246.8
2 à 3 mg/kg	67.5	17.0	247.0	223.3
3 à 4 mg/kg	77.4	25.4	204.8	120.0
4 à 5 mg/kg	80.4	25.8	168.5	107.0

L'enregistrement de l'ECG était continu, et les valeurs des variables pour un temps donné étaient précises et faciles à obtenir, puisque le logiciel de traitement de l'ECG (Ecg-Auto) permettait d'obtenir des valeurs ponctuelles (moyenne sur quelques secondes). Pour l'ECG HR, les enregistrements n'étaient pas continus (impossibilité due à la méthode même), mais des enregistrements étaient réalisés toutes les 6 minutes, soit entre des doses de 0 et 1 mg/kg, 1 et 2 mg/kg, 2 et 3 mg/kg, 3 et 4 mg/kg et 4 et 5 mg/kg. Chaque enregistrement durait entre 2 et 4 minutes, et tous les enregistrements étaient démarrés à temps d'administration fixe d'un animal à l'autre. En revanche, le temps de fin d'enregistrement (moment où des valeurs de variables étaient disponibles et où le rapport était imprimé) variait d'un enregistrement à l'autre. Autrement dit, la seule donnée connue et stable pour les enregistrements ECG HR était le temps de début d'enregistrement. Grâce à ce mode d'enregistrement, il était possible de suivre l'évolution des variables en fonction des différentes doses effectivement administrées.

L'analyse des valeurs nous a permis tout d'abord de confirmer les effets de la terfénadine, mis en évidence par l'examen ECG HR. Cela nous a aussi permis d'envisager une diminution de la dose. En effet, la lecture du tableau 7 indique qu'entre 3 et 4 mg/kg de terfénadine, des modifications des variables ECG HR assez importantes ont été enregistrées : le QRSf a augmenté de 20.7 %, le LAS 40 de 77.6 %, le RMS et le RMS 40 ont diminué de 43.2 et 58.3 % respectivement par rapport à la valeur à T0. D'autre part, à 4 mg/kg, l'allongement de l'intervalle QT corrigé était inférieur à 10 % par rapport à la valeur enregistrée à T0, ce qui restait dans les normes physiologiques chez le miniporc (données non publiées , Unité de Diagnostic Clinique - Sanofi-Aventis R&D)

Nous avons alors retenu la dose de 4 mg/kg de terfénadine pour évaluer l'effet de la durée d'administration.

- *Evaluation de l'effet durée de l'administration de 4 mg/kg de terfénadine*

La durée de l'administration de terfénadine a été évaluée en administrant la dose de 4 mg/kg sur une période de 20 minutes puis deux semaines plus tard sur une période de 30 minutes. Les variations des valeurs des différentes variables ECG (tableau 8) et ECG HR (tableau 9) entre le T0 (juste avant le début de l'administration) et le T20 (à la fin de l'administration de la totalité de la dose sur 20 minutes) ou le T30 (à la fin de l'administration de la totalité de la dose sur 30 minutes) ont été calculées.

Tableau 8 : Variations des variables ECG pour les deux animaux lors de l'administration de la dose de 4 mg/kg de terfénadine en 20 et 30 minutes

FC: Fréquence cardiaque (bpm) ; **QRS**: Durée du complexe QRS (ms) ; **QT**: Durée de l'intervalle QT (ms) ; **QTcF** : Durée de l'intervalle QT corrigé par la formule de Fredericia (ms) ; **T0**: Temps d'enregistrement juste avant le début de l'administration de la terfénadine ; **T 20-30**: Temps d'enregistrement après l'administration de la totalité de la dose de terfénadine en 20-30 minutes

Miniporc	Durée d'administration		FC	QRS	QT	QTcF
95815	30 minutes	T0	93	52	363	420
		T 30	72	62	474	503
		Variation (%)	**- 23%**	**+ 19 %**	**+ 31 %**	**+ 20 %**
	20 minutes	T0	97	51	336	393
		T 20	80	62	378	416
		Variation (%)	**- 17 %**	**+ 22 %**	**+ 13 %**	**+ 6 %**
95856	30 minutes	T0	116	54	314	390
		T 30	84	71	407	456
		Variation (%)	**- 28 %**	**+ 31 %**	**+ 30 %**	**+ 17 %**
	20 minutes	T0	121	52	330	417
		T 20	92	69	397	459
		Variation (%)	**- 24 %**	**+ 33 %**	**+ 20 %**	**+ 10 %**

Tableau 9 : Variations des variables ECG HR pour les deux animaux lors de l'administration de la dose de 4 mg/kg de terfénadine en 20 et 30 minutes

QRSf: Durée totale du complexe QRS filtré (ms) ; **LAS 40**: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts (ms) ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré (µv) ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré (µv) ; **T0**: Temps d'enregistrement juste avant le début de l'administration de la terfénadine ; **T max**: Pour chaque variable, l'effet maximum est retenu, sans considérer le moment où cet effet apparaît. T max correspond donc au temps d'observation de l'effet maximal pour chaque variable

Miniporc	Durée d'administration		QRSf	LAS40	RMS	RMS40
95815	30 minutes	T0	59	10.5	255	290
		T max	78.5	29	79	62
		Variation (%)	**+ 33 %**	**+ 176 %**	**- 69 %**	**- 79 %**
	20 minutes	T0	53	13,5	377	425
		T max	72.5	18	126	106
		Variation (%)	**+ 37 %**	**+ 33 %**	**- 69 %**	**-71 %**
95856	30 minutes	T0	68	18.5	335	138
		T max	91	30.5	141	35
		Variation (%)	**+ 34 %**	**+ 65 %**	**- 58 %**	**- 74 %**
	20 minutes	T0	68	17	334	225
		T max	88.5	33	151	32
		Variation (%)	**+ 30 %**	**+ 94 %**	**- 54 %**	**- 86 %**

La durée de l'administration semblait influencer les variations des variables ECG. Lorsque l'administration était réalisée en 30 minutes, les variations de toutes les variables ECG étaient plus importantes que celles observées lors d'une administration en 20 minutes. Ces résultats étaient en accord avec plusieurs études montrant que l'isoflurane prolonge significativement l'intervalle QT, chez le chien et chez l'homme (Riley et coll., 1988 ; Schmeling et coll., 1991) : dans cette étude, en prolongeant la durée de l'examen, les effets de l'isoflurane sur l'intervalle QT et QTc étaient augmentés.

En ce qui concerne les variables ECG HR, nous n'avons pas pu conclure à un effet de la durée de l'administration. Les différences de variations sont apparues de manière aléatoire en fonction des variables et des animaux : par exemple, le QRSf a montré une variation

légèrement plus importante sur l'animal 95815 lorsque l'administration était réalisée en 20 minutes, alors que sur l'animal 95856, la variation du QRSf était plus importante lorsque l'administration était réalisée sur une période de 30 minutes.
Par ailleurs, cette dernière phase de l'étude préliminaire a montré que la dose de 4 mg/kg provoquait encore trop d'effets sur les variables ECG.

Nous avons retenu une dose de 3 mg/kg, administrée sur une période de 20 minutes pour l'étude principale. Le choix de cette dose fut basé sur les observations réalisées lors du suivi de l'évolution des variables ECG HR durant l'administration de 5 mg/kg de terfénadine en 30 minutes (tableau 7). L'étude du pourcentage de variation des valeurs des différentes variables par rapport à leur valeur à T0 a indiqué que lors de l'enregistrement réalisé entre 2 et 3 mg/kg, les variations du QRSf, du LAS40 et du RMS40 furent de + 5.3 %, + 18 % et - 22.4 % respectivement, alors qu'elles furent de + 20.7 %, + 77.6 % et - 58.3 % lors des enregistrements réalisés entre 3 et 4 mg/kg. Les variations des variables ECG HR provoquées par une dose inférieure à 3 mg/kg (enregistrement réalisé pendant l'administration de 2 à 3 mg/kg) ne nous ont pas semblé suffisantes comparées à celles observées lors des enregistrements réalisés durant l'administration d'une dose de 3 à 4 mg/kg.
Par ailleurs, la lecture du tableau 6 montre des variations du QTc de + 6.1 % entre 0 et 3 mg/kg de terfénadine, alors qu'une variation de + 9.2 % est observée entre 0 et 4 mg/kg. Lors de la phase d'évaluation de la durée d'administration, la dose de 4 mg/kg de terfénadine administrée en 20 minutes provoquait des variations de + 6 % et de + 10 % pour les animaux 95815 et 95856 respectivement par rapport à la valeur à T0. Bien que ces valeurs de variations de l'intervalle QTc restaient inférieures à 10 %, nous avons choisi une dose de 3 mg/kg, pour laquelle les effets ECG HR étaient suffisants (cf supra), et pour laquelle les effets ECG allaient être atténués davantage.

III- ETUDE PRINCIPALE

Les matériels et les méthodes ont été identiques à ceux de l'étude préliminaire, à l'exception des animaux (annexe 1).

III.1- Recueils d'électrocardiographie haute-résolution pendant l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de terfénadine sur 20 minutes

III.1.1- Calendrier et protocole d'étude

Les phases expérimentales de cette étude ont été réalisées de la façon suivante :

- Trois séries de pré-tests (**pré-test 1** à **pré-test 3**), avec trois recueils par pré-test, espacées de 2 semaines chacune ont tout d'abord été réalisées afin d'obtenir des valeurs témoins. Ces résultats ont également servi à calculer les coefficients de variation des différentes variables ECG HR.
- Trois séries de tests avec administration de terfénadine ont ensuite été réalisées (**test 1** à **test 3**) à deux semaines d'intervalle chacune.

Les données recueillies avant administration lors de la semaine de test 1 ont été intégrées aux valeurs témoins.

Les enregistrements avant administration réalisés au cours des semaines de **test 2** et **test 3** n'ont en revanche pas été considérés comme données de pré-test car les animaux avaient alors déjà reçu de la terfénadine à ce stade de l'étude.

Lors des semaines de **test 2** et **test 3**, pour chaque animal, 6 enregistrements ECG HR avant administration (T1 à T6) ont été réalisés toutes les 5 minutes environ.

Après les enregistrements T1 à T6, la perfusion était mise en place et des enregistrements réalisés toutes les 5 minutes (temps nécessaire à la réalisation d'un enregistrement environ), jusqu'au moment de l'arrêt de la perfusion puis durant une période de récupération de 35 à 45 minutes (l'hypothermie trop importante de certains animaux ne nous permettait pas toujours d'aller jusqu'à 45 minutes de récupération).

Les enregistrements au cours d'un examen ont été numérotés de T1 à T20 en fonction du temps d'enregistrement et donc de l'intervalle de dose de terfénadine administrée pendant l'enregistrement (les enregistrements n'étant pas ponctuels et leur durée variant d'un enregistrement sur l'autre, seule la dose effectivement administrée au début de chaque enregistrement était connue et commune à tous les animaux puisque tous les recueils étaient démarrés à un temps donné et constant d'un enregistrement sur l'autre). Le tableau 10 résume la correspondance entre les numéros d'enregistrement, les temps d'enregistrement et les doses de terfénadine administrées entre lesquelles l'enregistrement était réalisé.

Tableau 10: Correspondance entre le temps d'enregistrement, le numéro d'enregistrement et la dose de terfénadine administrée avant, pendant et après l'administration de la terfénadine

0.00 : **En caractère gras**, la dose de terfénadine (en mg/kg) effectivement administrée au moment du début de l'enregistrement ; / : Les enregistrements T11 à T20 correspondent aux enregistrements réalisés pendant la période de récupération, donc sans administration de terfénadine supplémentaire, les miniporcs ayant à ce stade reçu la dose totale de 3 mg/kg de terfénadine

6 recueils avant injection	0 à 5 minutes	5 à 10 minutes	10 à 15 minutes	15 à 20 minutes	Arrêt de la perfusion	5 minutes récup.	10 à 45 minutes de récup.
T1 à T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13 à T20
Pas de terfénadine	**0.00** à 0.75 mg/kg	**0.75** à 1.50 mg/kg	**1.50** à 2.25 mg/kg	**2.25** à 3.00 mg/kg	**/**	/	**/**

A la fin de chaque examen, le circuit anesthésique et les électrodes étaient débranchés, et l'animal était ramené dans son box lorsqu'il était capable de marcher.

D'une semaine d'examen sur l'autre, les animaux étaient manipulés dans le même ordre, de manière à laisser à tous les animaux une période de récupération identique entre deux manipulations.

Le calendrier des différentes phases de l'étude principale est résumé dans le tableau 11.

Tableau 11: Calendrier de l'étude principale

Semaine	42	44	46	48	50
Pré-test	- 3 enregistrements consécutifs chez chaque animal **(Pré-test 1)**	- 3 enregistrements consécutifs chez chaque animal **(Pré-test 2)**	- 3 enregistrements consécutifs chez chaque animal **(Pré-test 3)**		
Test			Puis : - 5 enregistrements par animal pendant l'administration de terfénadine (20 minutes), effectués toutes les 5 minutes - 6 enregistrements pendant les 30 minutes de récupération **(Test 1)**	- 6 enregistrements avant l'administration - 5 enregistrements pendant l'administration - 6 enregistrements pendant la récupération **(Test 2)**	- 6 enregistrements avant l'administration - 5 enregistrements pendant l'administration - 6 enregistrements pendant la récupération **(Test 3)**

III.1.2- Résultats

III.1.2.1- Pré-test

L'ensemble des données de pré-test (annexe 4) a permis de calculer pour chaque variable des coefficients de variation intra-individuelle intra-jour (répétabilité), intra-individuelle inter-semaine et inter-individuelle, ainsi que le coefficient de variation global de la variable, prenant en compte toutes les sources de variation de celle-ci (tableau 12), selon la méthode statistique décrite dans la partie I.4.1.

Tableau 12 : Valeurs des différents coefficients de variations des quatre variables ECG HR

QRSf : Durée totale du complexe QRS filtré ; **LAS 40**: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts ; **RMS** : Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré ; **RMS 40** : Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré ; **CV** : Coefficient de variation

Variable	CV intra-individuel intra-jour (répétabilité, %)	CV inter-semaine intra-individuel (%)	CV inter-individuel (%)	CV global (%)
QRSf	1.2	4.1	5.6	7.1
LAS 40	5.1	15.7	25.3	30.3
RMS	1.5	6.3	19.3	20.4
RMS 40	2.7	12.1	22.2	25.5

Par ailleurs, à partir des 9 valeurs de chaque animal (3 enregistrements x 3 séries de pré-test), l'écart-type moyen de chaque variable (tableau 13) prenant en compte la variation intra-individuelle et inter-semaine a été calculé.

Un intervalle de fluctuation a été obtenu pour chaque animal pour chacune des variables selon la méthode décrite dans la partie I.4.2.

Les valeurs des intervalles de fluctuation de toutes les variables pour tous les animaux sont détaillées dans l'annexe 5.

Tableau 13: Valeurs des écarts-types des quatre variables ECG HR prenant en compte les variations intra-individuelle et inter-semaine
QRSf: Durée totale du complexe QRS filtré (ms) ; **LAS 40**: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts (ms) ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré (µv) ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré (µv)

Variable	Écart- type
QRSf	2.1
LAS 40	1.7
RMS	24.2
RMS 40	47.3

III.1.2.2- Recueils d'électrocardiographie haute-résolution pendant et après administration de la terfénadine

- Evaluation de l'effet dose de la terfénadine

Les figures 13 à 16 sont la représentation graphique de l'évolution des valeurs moyennes (moyennes pour tous les animaux et tous les tests) de chacune des variables en fonction du temps d'enregistrement (donc de la dose de terfénadine administrée).

La méthode d'évaluation de l'effet de la dose de terfénadine administrée a été détaillée dans la partie I.4.3.2. La valeur de référence (Tref) a été obtenue en calculant une moyenne de l'ensemble des valeurs enregistrées avant l'administration de la terfénadine (enregistrements T1 à T3 pour la semaine de test 1 et T1 à T6 pour les semaines de test 2 et 3).

Les tableaux 14 à 17 font apparaître pour chaque temps d'enregistrement (donc pour chaque dose administrée, Cf. tableau 11) la valeur de la différence entre la valeur moyenne (tous les animaux et tous les tests) de chaque variable et la valeur de référence, ainsi que la valeur de P après estimation et ajustement de cette différence par le test de Dunett.

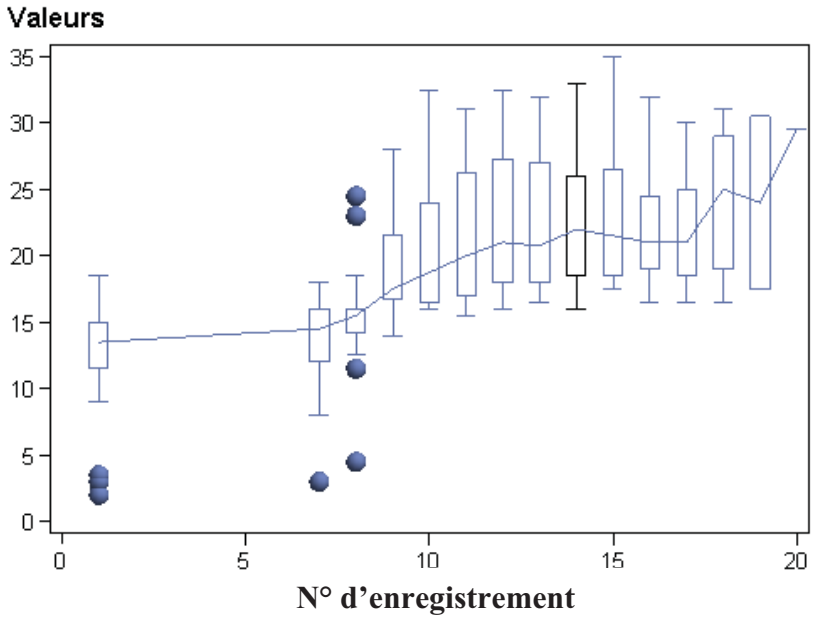


Figure 13 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne* de la variable LAS40 en fonction du numéro d'enregistrement

* Moyenne calculée à partir des valeurs des 8 miniporcs sur l'ensemble des trois tests
- Abscisses : numéro d'enregistrement
- Ordonnées : valeur moyenne du LAS40 (en ms)

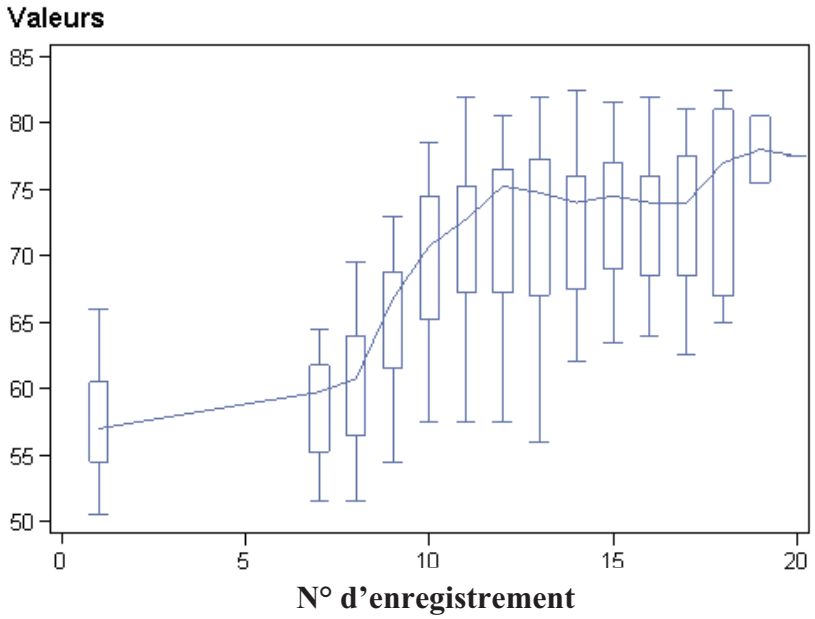


Figure 14 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne* de la variable QRSf en fonction du numéro d'enregistrement

* Moyenne calculée à partir des valeurs des 8 miniporcs sur l'ensemble des trois tests
- Abscisses : numéro d'enregistrement
- Ordonnées : valeur moyenne du QRSf (en ms)

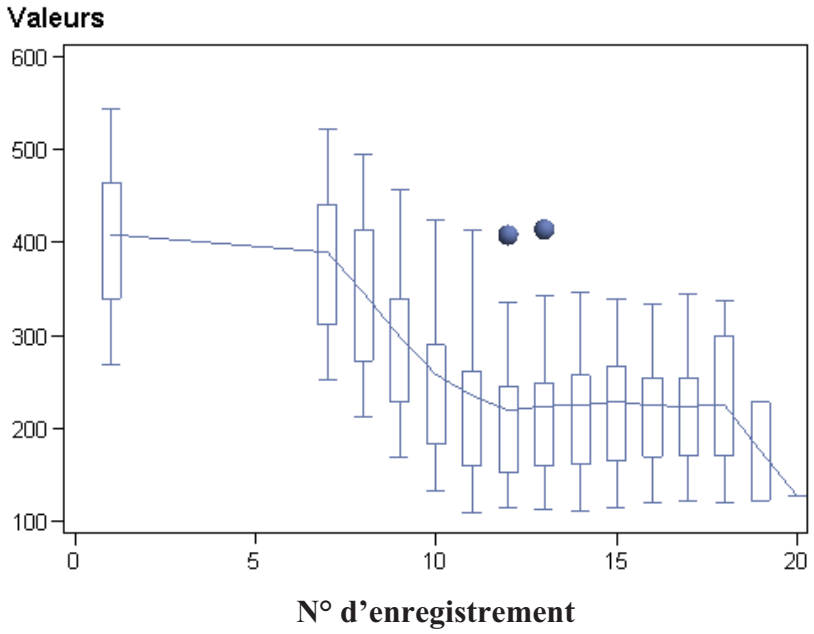


Figure 15 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne* de la variable RMS en fonction du numéro d'enregistrement

* Moyenne calculée à partir des valeurs des 8 miniporcs sur l'ensemble des trois tests
- Abscisses : numéro d'enregistrement
- Ordonnées : valeur moyenne du RMS (en µv)

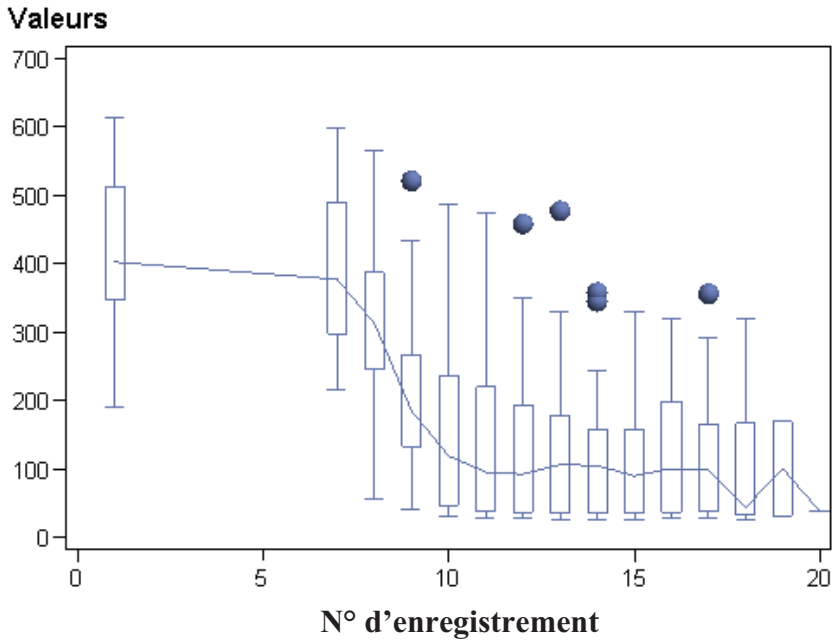


Figure 16 : Représentation graphique de l'évolution de la valeur moyenne* de la variable RMS40 en fonction du numéro d'enregistrement

* Moyenne calculée à partir des valeurs des 8 miniporcs sur l'ensemble des trois tests
- Abscisses : numéro d'enregistrement
- Ordonnées : valeur moyenne du RMS40 (en µv)

Tableau 14 : Différences entre les valeurs moyennes* et la valeur de référence** de la variable QRSf pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux

En caractère gras, les valeurs de différences statistiquement significatives ; min : Minutes.
* La valeur moyenne est calculée à partir de toutes les valeurs de tous les animaux sur tous les tests pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est calculée à partir de l'ensemble des valeurs avant administration, sur tous les animaux et sur tous les tests

N° d'enregistrement (temps d'administration/récupération)	Estimation de la différence (ms)	P
T7 (0 à 5 min d'administration)	1.30	0.4291
T8 (5 à 10 min d'administration)	**3.11**	**<.0001**
T9 (10 à 15 min d'administration)	**7.99**	**<.0001**
T10 (15 à 20 min d'administration)	**12.32**	**<.0001**
T11 (arrêt de la perfusion)	**13.91**	**<.0001**
T12 (5 min de recupération)	**14.68**	**<.0001**
T13 (10 min de recupération)	**14.86**	**<.0001**
T14 (15 min de recupération)	**14.65**	**<.0001**
T15 (20 min de recupération)	**15.11**	**<.0001**
T16 (25 min de recupération)	**14.79**	**<.0001**
T17 (30 min de recupération)	**14.85**	**<.0001**
T18 (35 min de recupération)	**14.86**	**<.0001**
T19 (40 min de recupération)	**19.22**	**<.0001**
T20 (45 min de recupération)	**19.99**	**<.0001**

Tableau 15 : Différences entre les valeurs moyennes* et la valeur de référence** de la variable LAS 40 pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux

En caractère gras, les valeurs de différences statistiquement significatives ; min : Minutes.
* La valeur moyenne est calculée à partir de toutes les valeurs de tous les animaux sur tous les tests pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est calculée à partir de l'ensemble des valeurs avant administration, sur tous les animaux et sur tous les tests

N° d'enregistrement (temps d'administration/recupération)	Estimation de la différence (ms)	P
T7 (0 à 5 min d'administration)	0.91	0.9381
T8 (5 à 10 min d'administration)	**2.60**	**0.0032**
T9 (10 à 15 min d'administration)	**6.31**	**<.0001**
T10 (15 à 20 min	**8.03**	**<.0001**
T11 (arrêt de la perfusion)	**9.01**	**<.0001**
T12 (5 min de recupération)	**9.58**	**<.0001**
T13 (10 min de recupération)	**9.68**	**<.0001**
T14 (15 min de recupération)	**9.56**	**<.0001**
T15 (20 min de recupération)	**10.07**	**<.0001**
T16 (25 min de recupération)	**9.26**	**<.0001**
T17 (30 min de recupération)	**8.94**	**<.0001**
T18 (35 min de recupération)	**10.23**	**<.0001**
T19 (40 min de recupération)	**11.25**	**<.0001**
T20 (45 min de recupération)	**13.63**	**0.0003**

Tableau 16 : Différences entre les valeurs moyennes* et la valeur de référence** de la variable RMS pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux

En caractère gras, les valeurs de différences statistiquement significatives ; min : Minutes.
* La valeur moyenne est calculée à partir de toutes les valeurs de tous les animaux sur tous les tests pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est calculée à partir de l'ensemble des valeurs avant administration, sur tous les animaux et sur tous les tests

N° d'enregistrement (temps d'administration/recupération)	Estimation de la différence (µv)	P
T7 (0 à 5 min d'administration)	**-22.08**	**0.0159**
T8 (5 à 10 min d'administration)	**-64.00**	**<.0001**
T9 (10 à 15 min d'administration)	**-119.96**	**<.0001**
T10 (15 à 20 min d'administration)	**-161.38**	**<.0001**
T11 (arrêt de la perfusion)	**-187.04**	**<.0001**
T12 (5 min de recupération)	**-195.21**	**<.0001**
T13 (10 min de recupération)	**-192.13**	**<.0001**
T14 (15 min de recupération)	**-191.68**	**<.0001**
T15 (20 min de recupération)	**-189.12**	**<.0001**
T16 (25 min de recupération)	**-185.79**	**<.0001**
T17 (30 min de recupération)	**-184.38**	**<.0001**
T18 (35 min de recupération)	**-174.12**	**<.0001**
T19 (40 min de recupération)	**-184.19**	**<.0001**
T20 (45 min de recupération)	**-180.91**	**<.0001**

Tableau 17 : Différences entre les valeurs moyennes* et la valeur de référence** de la variable RMS 40 pour chaque temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes suivie d'une période de récupération de 45 minutes sur 8 animaux

En caractère gras, les valeurs de différences statistiquement significatives ; min : Minutes.
* La valeur moyenne est calculée à partir de toutes les valeurs de tous les animaux sur tous les tests pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est calculée à partir de l'ensemble des valeurs avant administration, sur tous les animaux et sur tous les tests

N° d'enregistrement (temps d'administration/recupération)	Estimation de la différence (µv)	P
T7 (0 à 5 min d'administration)	-36.45	0.1109
T8 (5 à 10 min d'administration)	**-106.66**	**<.0001**
T9 (10 à 15 min d'administration)	**-214.24**	**<.0001**
T10 (15 à 20 min d'administration)	**-266.62**	**<.0001**
T11 (arrêt de la perfusion)	**-286.53**	**<.0001**
T12 (5 min de recupération)	**-296.99**	**<.0001**
T13 (10 min de recupération)	**-297.33**	**<.0001**
T14 (15 min de recupération)	**-301.50**	**<.0001**
T15 (20 min de recupération)	**-307.53**	**<.0001**
T16 (25 min de recupération)	**-296.49**	**<.0001**
T17 (30 min de recupération)	**-298.82**	**<.0001**
T18 (35 min de recupération)	**-300.16**	**<.0001**
T19 (40 min de recupération)	**-304.71**	**<.0001**
T20 (45 min de recupération)	**-317.88**	**<.0001**

Des différences significatives ont été observées à partir de T8 (5 à 10 minutes d'administration), T8, T7 (0 à 5 minutes d'administration), et T8, respectivement, pour le QRSf, LAS 40, RMS et RMS 40.
Cette approche ne distingue pas les animaux ni les différentes semaines de test. L'effet significatif global, lorsqu'il apparaissait, pouvait être soit dû à un effet modéré chez l'ensemble des animaux, soit dû à un effet très important chez un petit nombre d'animaux. Cette deuxième hypothèse n'aurait pas été très intéressante pour notre étude et pour la reproductibilité de l'examen.
C'est pourquoi une troisième approche d'analyse des résultats a été envisagée.

- Evolution dynamique individuelle

- *Recueils avant l'administration de la terfénadine des tests 2 et 3 :*

L'ensemble des valeurs recueillies avant l'administration de la terfénadine sur les trois tests chez tous les animaux et pour toutes les variables est regroupé dans l'annexe 6.

Lors des enregistrements avant l'administration de terfénadine des semaines de test 2 et 3, certaines valeurs sortaient de leur intervalle de fluctuation de manière isolée (notamment pour les variables RMS et RMS 40, ainsi que pour la variable LAS 40 de l'animal 74744). Cependant, aucun animal n'a présenté de PVT selon nos critères, c'est-à-dire les valeurs des 4 variables hors normes lors du même enregistrement. L'observation de ces valeurs montre qu'il n'y avait pas d'effet résiduel de la terfénadine après 2 semaines de repos.

- *Recueils pendant l'administration de la terfénadine des tests 1, 2 et 3 :*

L'ensemble des valeurs recueillies pendant l'administration de la terfénadine et pendant la période de récupération au cours des trois tests chez tous les animaux et pour toutes les variables est regroupé dans l'annexe 7.
Il a été possible de déterminer les temps d'enregistrement où les PVT étaient présents, c'est-à-dire lorsque les quatre variables étaient en dehors de leur intervalle de fluctuations en même temps.
Le tableau 18 résume, pour chaque animal et pour chacun de ses tests, les temps d'enregistrements où les PVT étaient présents.

Tableau 18: Temps d'enregistrement où des potentiels ventriculaires tardifs étaient présents pour chaque animal et pour chacun de ses tests pendant l'administration de 3 mg/kg de terfénadine et pendant la période de récupération
En caractère gras : dernier temps d'enregistrement effectué durant le test
Ø : absence de PVT lors du test
T9 à T 18 : Différents temps d'enregistrement

Miniporc	Test 1	Test 2	Test 3
74717	T9 à **T17**	T10 à **T16**	T9 à **T17**
74721	**Ø**	T13, T16	T12, T13, T15 à **T17**
74740	T10 à **T20**	T9 à **T17**	T9 à **T17**
74744	T10 à **T15**	T10 à **T18**	T9 à **T17**
74745	T9 à **T18**	T9 à **T17**	T9 à **T17**
74750	T10 à **T19**	T10, T12 à **T17**	T9 à **T17**
74752	T10 à **T17**	T11 à **T17**	T10 à **T17**
74754	T9 à **T18**	T8 à **T18**	T9 à **T17**

A partir du moment où les PVT apparaissaient (premier temps d'enregistrement où les quatre variables étaient hors normes en même temps), ils persistaient en règle générale jusqu'à la fin de l'examen pendant toute la période de récupération.
Le miniporc 74721 n'a pas présenté de PVT pendant son test 1, en a présenté de manière transitoire sur deux temps d'enregistrements lors de son test 2, en a présenté de manière transitoire sur deux temps d'enregistrement avant d'en développer tardivement (T15) de manière durable (3 enregistrements consécutifs, T15 à T17) jusqu'à la fin de la période de récupération sur son test 3.
Le miniporc 74750 a développé des PVT à T10, pour finalement en présenter de manière durable à partir de T12 jusqu'à la fin de la période de récupération.

III.1.2.3- Evaluation de l'effet de l'administration de terfénadine sur les variables d'électrocardiographie standard

Deux ECG standard ont été réalisés sur les animaux vigiles (l'ECG standard étant moins sensible aux mouvements que l'ECG HR, il a été possible de le réaliser sur animaux vigiles) avant le début de l'étude, d'une durée de 2 minutes chacun, espacés de 10 minutes. A partir de

l'analyse de ces ECG à l'aide du logiciel ECG Auto, des valeurs moyennes de chacune des quatre variables ECG (FC, QRS, QT et QTcf) ont été obtenues.

Par ailleurs, lors des tests avec administration de terfénadine, des ECG ont été réalisés au moment de la fin de l'administration de terfénadine et une moyenne des valeurs de chaque variable a été réalisée pour chaque test.

Ainsi, les variations de chaque variable entre les valeurs « vigiles » et les valeurs après administration de 3 mg/kg de terfénadine ont été calculées. Ceci est résumé dans le tableau 19.

Tableau 19 : Variations des valeurs des variables ECG entre les enregistrements sur animaux vigiles et les enregistrements après administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes sur les trois tests sur les 8 animaux

FC : Fréquence cardiaque (bpm) ; **QRS** : Durée du complexe QRS (ms) ; **QT** : Durée de l'intervalle QT (ms) ; **QTcF** : Durée de l'intervalle QT corrigé par la formule de Fredericia (ms) ; **Vigile** : valeurs moyennes obtenues à partir des deux enregistrements ECG réalisés sur les 8 animaux vigiles ; **test 1 à 3** : valeurs moyennes obtenues à la fin de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes à partir des enregistrements sur les 8 animaux lors des tests 1 à 3, et variation associée, en %, par rapport à la valeur « vigile »

	FC	QRS	QT	QTcf
Vigile	95.2	50.3	317	365.1
Test 1 **(variation en %)**	82.8 **(- 13 %)**	55.1 **(+ 9.5 %)**	441.5 **(+ 39.3 %)**	487.4 **(+ 33.5 %)**
Test 2 **(variation en %)**	91.8 **(- 3.6 %)**	57 **(+ 13.3 %)**	407.9 **(+ 28.7 %)**	469 **(+ 28.5 %)**
Test 3 **(variation en %)**	89.5 **(- 6 %)**	56.6 **(+ 12.5 %)**	417.5 **(+ 31.7 %)**	473.9 **(+ 29.8 %)**

Bien que ces données n'aient pas été traitées de manière statistique, et qu'aucune significativité statistique n'ait pu être mise en évidence pour ces variations, les variations des QT et QTcf, autour de + 30 %, sont très importantes, comparé aux 10 % admis physiologiquement chez le miniporc (données non publiées, Unité de Diagnostic Clinique - Sanofi-Aventis R&D).

III.2- Evaluation des effets de la durée de l'anesthésie à l'isoflurane sur les variables d'électrocardiographie haute-resolution et d'électrocardiographie standard

III.2.1- But de l'expérience

L'utilisation d'agents anesthésiques est indispensable pour obtenir des enregistrements ECG HR de qualité, avec le minimum de parasites.
Pour diminuer les effets des xénobiotiques, l'anesthésie a été réalisée exclusivement avec de l'isoflurane sans prémédication.

Au cours des manipulations précédentes, notamment lors des 6 enregistrements avant administration des tests 2 et 3, une diminution de la valeur du RMS et du RMS 40 a été observée. Cette étude a été réalisée pour évaluer les éventuels effets de l'agent anesthésique sur les différentes variables ECG HR. Par ailleurs, des enregistrements ECG ont été réalisés pour apprécier les effets de l'anesthésie à l'isoflurane sur les variables ECG (sans analyse statistique des données).

III.2.2- Protocole expérimental

Cette étude a été réalisée sur les huit animaux utilisés dans la phase expérimentale précédente, après une période de repos de 6 semaines.
Une seule série d'examens sous anesthésie uniquement a été réalisée.

La préparation de la peau ainsi que la mise en place des électrodes étaient réalisées avant l'induction de l'anesthésie (ceci était rendu possible par le fait que les animaux étaient plus en confiance à ce stade de l'étude). La température corporelle de l'animal était mesurée au moyen d'un thermomètre rectal. L'induction, l'intubation de l'animal et le maintien de l'anesthésie étaient réalisés comme décrit précédemment.
L'heure du début de l'induction était soigneusement relevée. Quinze minutes après le début de l'induction (temps nécessaire à l'induction et à l'intubation de l'animal), un premier enregistrement d'ECG HR était réalisé : ce temps d'enregistrement constituait le premier enregistrement disponible sur tous les animaux. Dans la suite de la manipulation, des enregistrements ECG HR étaient réalisés toutes les 10 minutes, jusqu'à la fin de l'anesthésie,

145 minutes après l'heure de l'induction. Les différents temps d'enregistrement ont été nommés T1' à T14' à partir du premier enregistrement (à 15 minutes après l'heure d'induction) jusqu'à 145 minutes d'anesthésie.

Un enregistrement ECG de deux minutes était réalisé de manière concomitante à chaque enregistrement ECG HR.

A la fin de l'examen, l'arrivée d'anesthésique volatil était coupée et les différentes électrodes débranchées. Le réveil se passait dans le hamac sous les lampes chauffantes pour assurer la surveillance de l'animal.

III.2.3- Evaluation de l'effet de la durée de l'anesthésie sur les variables d'électrocardiographie haute-résolution

La méthode d'évaluation de l'effet de la durée de l'anesthésie a été détaillée dans la partie I.4.4. La valeur de référence (Tref') de chaque variable a été obtenue en calculant une moyenne de l'ensemble des valeurs enregistrées au temps d'enregistrement T1'.

Les tableaux 20 à 23 font apparaître pour chaque temps d'enregistrement la valeur de la différence entre la valeur moyenne (tous les animaux) de chaque variable et sa valeur de référence, ainsi que la valeur de P après estimation et ajustement de cette différence par le test de Dunett.

Tableau 20 : Différences entre les valeurs moyennes* enregistrées toutes les 10 minutes pendant 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence** de la variable LAS 40 pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée

* La valeur moyenne est calculée à partir des valeurs de tous les animaux pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est la moyenne des valeurs de tous les animaux enregistrées au temps T1'

N° d'enregistrement	Estimation de la différence (ms)	P
T2'	0.19	1.00
T3'	0.63	0.82
T4'	0.13	1.00
T5'	0.38	0.99
T6'	0.50	0.95
T7'	0.50	0.95
T8'	0.88	0.44
T9'	1.19	0.13
T10'	0.38	0.99
T11'	0.50	0.95
T12'	0.69	0.73
T13'	0.25	1.00
T14'	0.81	0.53

Tableau 21 : Différences entre les valeurs moyennes* enregistrées toutes les 10 minutes pendant 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence** de la variable QRSf pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée

En caractère gras : différence statistiquement significative
* La valeur moyenne est calculée à partir des valeurs de tous les animaux pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est la moyenne des valeurs de tous les animaux enregistrées au temps T1'

N° d'enregistrement	Estimation de la différence (ms)	P
T2'	0.00	1.00
T3'	0.81	0.79
T4'	0.13	1.00
T5'	0.44	1.00
T6'	-0.06	1.00
T7'	0.94	0.64
T8'	1.31	0.24
T9'	1.50	0.13
T10'	1.06	0.49
T11'	1.44	0.16
T12'	1.63	0.08
T13'	**1.81**	**< 0.05**
T14'	**2.38**	**< 0.05**

Tableau 22 : Différences entre les valeurs moyennes* enregistrées toutes les 10 minutes pendant 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence** de la variable RMS pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée

En caractère gras : différence statistiquement significative
* La valeur moyenne est calculée à partir des valeurs de tous les animaux pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est la moyenne des valeurs de tous les animaux enregistrées au temps T1'

N° d'enregistrement	Estimation de la différence (µv)	P
T2'	3.75	1.00
T3'	-5.50	0.98
T4'	-8.75	0.69
T5'	-16.25	0.07
T6'	**-17.63**	**0.0373**
T7'	**-24.00**	**0.0013**
T8'	**-27.63**	**0.0001**
T9'	**-31.13**	**<.0001**
T10'	**-31.75**	**<.0001**
T11'	**-34.75**	**<.0001**
T12'	**-36.88**	**<.0001**
T13'	**-40.50**	**<.0001**
T14'	**-42.75**	**<.0001**

Tableau 23 : Différences entre les valeurs moyennes* enregistrées toutes les 10 minutes pendant 145 minutes d'anesthésie gaseuze à l'isoflurane des 8 miniporcs et la valeur de référence** de la variable RMS40 pour tous les temps d'enregistrement, évaluées et ajustées par le test de Dunett, et valeur de P associée

En caractère gras : différence statistiquement significative
* La valeur moyenne est calculée à partir des valeurs de tous les animaux pour un temps d'enregistrement donné ; ** La valeur de référence est la moyenne des valeurs de tous les animaux enregistrées au temps T1'

N° d'enregistrement	Estimation de la différence (µv)	P
T2'	3.0000	1.0000
T3'	-10.7500	0.9345
T4'	-12.8750	0.8255
T5'	-25.8750	0.0981
T6'	**-33.3750**	**0.0133**
T7'	**-37.5000**	**0.0037**
T8'	**-41.8750**	**0.0008**
T9'	**-48.5000**	**<.0001**
T10'	**-47.5000**	**0.0001**
T11'	**-48.5000**	**<.0001**
T12'	**-64.2500**	**<.0001**
T13'	**-64.5000**	**<.0001**
T14'	**-59.8750**	**<.0001**

Des différences significatives ont été observées à partir de T6' (65 minutes post induction) pour le RMS et le RMS 40, à partir de T13' (135 minutes post induction) pour le QRSf. Les valeurs du LAS 40 ne montrent pas de différence significative avec la valeur de référence sur toute la durée de l'examen.

La durée de l'anesthésie a donc provoqué une diminution significative du RMS et du RMS 40 à partir de 65 minutes d'anesthésie environ, ce qui correspondait à peu près au temps de début d'administration de la terfénadine lors des tests (il s'agissait du temps nécessaire à l'induction de l'anesthésie, la mise en place des électrodes, la réalisation des enregistrements avant administration et au branchement de la perfusion). L'allongement significatif du QRSf ne peut pas être considéré comme un biais pour les tests car la différence ne devient significative que tardivement : 125 minutes correspondaient environ à la durée d'un test.

L'anesthésie gazeuse à l'isoflurane n'a donc pas provoqué le développement de PVT selon nos critères (4 variables hors normes) car elle n'a pas eu d'effets significatifs sur la variable LAS 40, mais a cependant provoqué des modifications significatives des 3 autres variables.

III.2.4- Evolution des variables d'electrocardiographie lors de l'anesthésie à l'isoflurane

Le logiciel Ecg-Auto (EMKA technologies, Paris, France) fournissait pour chaque variable et pour chaque enregistrement de deux minutes une valeur moyenne calculée sur ces deux minutes d'enregistrement. Ainsi, pour les huit animaux, et pour chaque variable ECG, des valeurs sur animal vigile (enregistrement réalisé avant le début des manipulations), 15 minutes après l'induction puis toutes les dix minutes pendant les 145 minutes d'anesthésie étaient disponibles (annexes 8 à 11). À partir de ces valeurs, une moyenne a été calculée pour chaque variable et pour chaque temps d'enregistrement (tableau 24). La figure 17 illustre l'évolution des moyennes des différentes variables au cours des 145 minutes d'anesthésie.

Tableau 24 : Moyenne des valeurs des différentes variables ECG sur animaux vigiles et au cours des 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane, enregistrées sur les 8 miniporcs

FC: Fréquence cardiaque (bpm) ; **QRS**: Durée du complexe QRS (ms) ; **QT**: Durée de l'intervalle QT (ms) ; **QTcF**: Durée de l'intervalle QT corrigé par la formule de Fredericia (ms) ; **Vigile**: valeurs moyennes obtenues à partir des deux enregistrements ECG réalisés sur les 8 animaux vigiles ; T1' à T14': temps d'enregistrement, correspondant à un enregistrement toutes les dix minutes à partir du temps 15 minutes post induction de l'anesthésie, pendant 2 h 25 d'anesthésie

	FC	QRS	QT	QTcf
Vigile	95.2	50.3	317	365.1
T1'	157.9	51.8	267.9	365.5
T2'	149.0	50.8	274.6	370.1
T3'	138.8	50.8	289.9	381.6
T4'	132.0	51.1	300.9	389.8
T5'	125.9	50.4	308.8	393.4
T6'	121.4	51.4	317.4	400.0
T7'	116.0	52.0	322.9	400.7
T8'	111.0	51.4	332.8	406.9
T9'	109.0	51.5	340.1	413.4
T10'	107.4	52.0	346.0	419.1
T11'	105.5	52.3	351.5	423.5
T12'	102.3	53.3	356,9	426.3
T13'	104.3	53,3	356.8	427.5
T14'	101.9	52.8	366.8	436.6

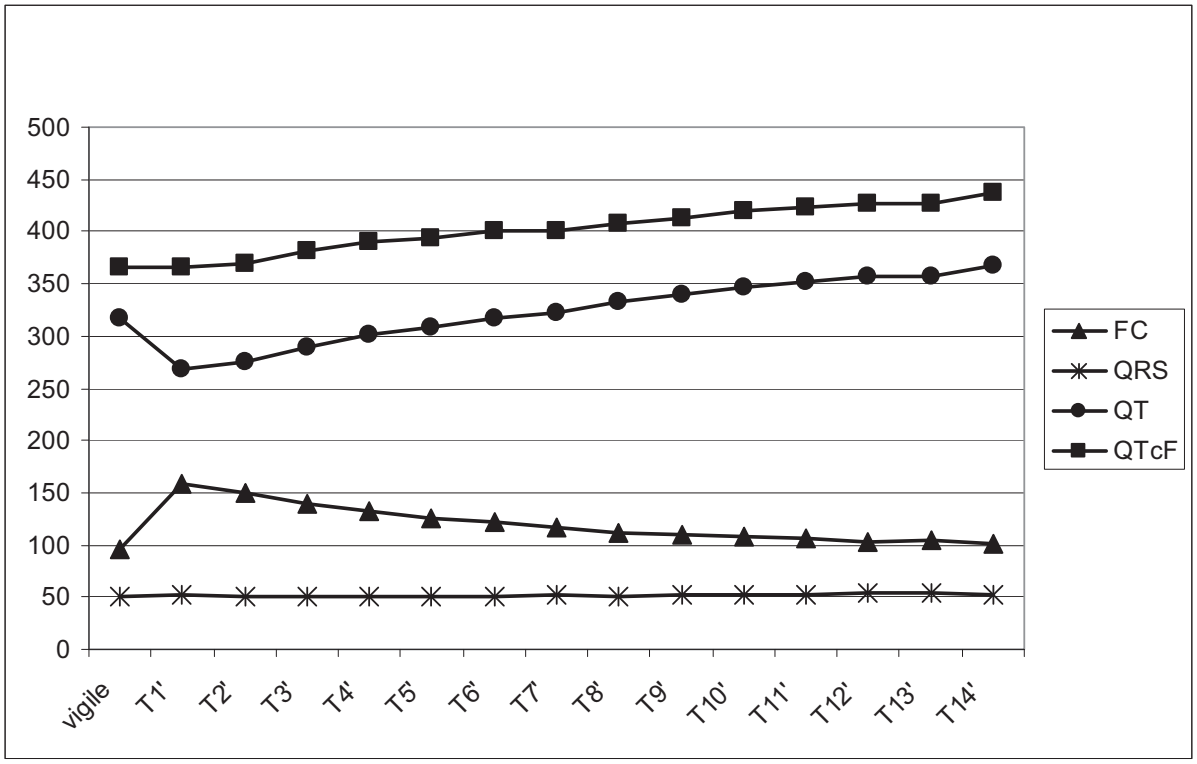


Figure 17 : Evolution des moyennes des différentes variables ECG pendant 145 minutes d'anesthésie gazeuse à l'isoflurane sur les 8 miniporcs

En abscisses, le temps de l'anesthésie (**vigile** : correspond aux enregistrements réalisés sur animaux vigiles avant le début de l'étude ; **T1' à T14'** : correspondent aux différents temps d'enregistrement, réalisés toutes les dix minutes à partir de 15 minutes post induction de l'anesthésie)
En ordonnées, la valeur de la fréquence cardiaque (en bpm), des intervalles QRS, QT et QTcF (en ms)
FC : fréquence cardiaque (bpm) ; **QRS** : durée du complexe QRS (ms) ; **QT** : durée de l'intervalle QT (ms) ; **QTcF** : durée de l'intervalle QT corrigé par la formule de Fredericia

Aucune analyse statistique n'a été réalisée sur ces données ECG, mais il semble intéressant d'étudier l'évolution des différentes variables entre la valeur moyenne sur animaux vigiles, et à la fin de l'anesthésie. La fréquence cardiaque et la durée de l'intervalle QRS ne montrent pas d'évolution notable. En revanche, la valeur de l'intervalle QT et celle du QTcF augmentent de 15.7 et 19.6 %, respectivement, entre la valeur sur animal vigile et la valeur moyenne après 145 minutes d'anesthésie.

IV- DISCUSSION

IV.1- Pré-tests : étude de la variabilité des différentes variables et définition des potentiels ventriculaires tardifs

L'étude des propriétés métrologiques de chaque variable mesurées grâce à la réalisation des pré-tests montre que la répétabilité est bonne pour l'ensemble des variables. La variabilité inter-individuelle peut atteindre 25.3 % (LAS 40) et justifie le fait que, dans les études de toxicologie non rongeurs, pour lesquelles le nombre d'animaux est limité, chaque animal soit utilisé comme son propre témoin. En se basant sur les valeurs de l'ensemble des animaux, les intervalles de fluctuations de valeurs normales risqueraient d'être trop larges (à cause de la variabilité inter-individuelle). Ainsi, les valeurs d'un animal pourraient varier de manière très importante sous l'effet d'un produit, en restant pourtant dans l'intervalle de valeurs normales. Les effets du produit ne seraient alors pas détectés, et la sensibilité de la méthode serait diminuée (donc le nombre de faux négatifs augmenté).

Néanmoins, il serait intéressant pour ce type d'examen, de disposer d'une base de données assez importante pour pouvoir réaliser un tri en pré-test. Cela permettrait de situer les animaux entrant dans l'étude par rapport aux valeurs de cette base de données, et d'éliminer ainsi des animaux qui, dès le pré-test, possèdent des valeurs aberrantes.

L'animal n° 74744, chez qui des moyennes de 9.5 ms, 3 ms et 2.83 ms ont été relevées au cours de ses trois pré-tests pour la variable LAS 40, aurait alors pu être écarté de l'étude à cause de la très grande variabilité inter-semaine qu'ont présentées les valeurs du LAS 40.

En l'absence de données disponibles sur la « variabilité normale » du LAS 40 du miniporc, nous avons décidé de le garder dans l'étude.

A partir des donnés recueillies en pré-test, il est aussi intéressant d'analyser les propriétés de chaque variable.

Le QRSf présente les meilleures valeurs de reproductibilité et répétabilité. Ceci est en accord avec les études ayant étudié cette reproductibilité, tant chez l'homme (Denes et coll., 1983), que le chien (De Barbeyrac, 2004), ou le miniporc (Sébille, 1997).

En revanche, le LAS 40, dans notre étude, est la variable la moins reproductible et la moins répétable. Ceci est en contradiction avec les deux études disponibles sur le porc : Sébille avait

trouvé que le LAS 40 était la meilleur variable avec le QRSf, en matière de reproductibilité et de répétabilité (Sébille, 1997). Tobé et coll., travaillant sur le LAS 30 (durée de la portion terminale du complexe QRS filtré dont l'amplitude est inférieure à 30 μv), ont admis la présence de PVT si l'une ou l'autre, ou les deux variables QRSf et LAS 30 étaient hors normes (Tobé et coll., 1992).
Ces variations importantes du LAS 40 observées dans notre étude peuvent être expliquées par l'animal 74744, qui, comme nous l'avons dit précédemment, aurait pu être éliminé de l'étude.
Si Sébille a considéré que les RMS (RMS et RMS 40) étaient de mauvais indicateurs, nous avons constaté, à l'instar de ce qui avait été observé par de Barbeyrac, qu'ils ne sont pas de mauvais indicateurs en matière de répétabilité et de reproductibilité inter-semaine. En revanche, comme pour l'ensemble des variables, la variabilité inter-animale est très importante, ce qui n'a que peu d'importance, puisque chaque animal est son propre témoin.
L'anesthésie possède un effet significatif sur ces deux variables au bout d'une heure environ, ce qui correspond à peu près au moment du début de l'administration de la terfénadine lors des tests. Un effet significatif observé sur ces deux variables ne peut donc pas suffire à conclure à la présence de PVT induits par la terfénadine dans le cadre de notre étude.

L'ensemble des observations précédentes justifie notre choix de considérer la présence de PVT lors de l'administration de la terfénadine lorsque les quatre variables sont hors normes.

IV.2- Sensibilité et spécificité

Nous avons calculé les intervalles de fluctuation de chaque variable pour chaque animal sur la base de la moyenne de chaque animal ± 3 écart types (intervalle de confiance à 99 %).
Nos critères de présence de PVT, très exigeants (4 variables hors norme et intervalle de fluctuations à 99 %), confèrent à la méthode une très grande spécificité au détriment de la sensibilité. Autrement dit, le risque de faux négatifs est plus important que celui de faux positifs.

Ces caractéristiques s'appliquent bien à la phase de validation sur laquelle nous travaillons : les effets que l'on met en évidence sont réels, à cause du très faible risque de faux positifs. En revanche, lors d'essais pré-cliniques sur des molécules dont nous ne connaissons pas les effets cardiaques, la méthode doit être plus sensible (intervalle de fluctuations à 95 %), pour ne pas prendre le risque d'avoir des faux négatifs, et donc de ne pas détecter une molécule potentiellement dangereuse.

Or, sur l'ensemble des trois tests, tous les animaux excepté la femelle 74721, développent des PVT selon nos critères entre le temps 8 (5 et 10 minutes d'injection) et le temps 12 (5 minutes après l'arrêt de la perfusion) au cours de l'administration de terfénadine. Chez tous ces animaux, la terfénadine provoque donc bien des effets réels (risque de faux positifs quasi nul), et l'induction de PVT par la terfénadine est reproductible. Il est probable qu'avec des critères moins stricts (sensibilité meilleure), la femelle 74721 aurait aussi présenté des PVT durant ses tests.

IV.3- Signification de l'apparition des potentiels ventriculaires tardifs pendant l'administration de la terfénadine

Les PVT ont principalement été étudiés lorsque des anomalies tissulaires (ischémies, DVDA…) provoquaient des remaniements histopathologiques, engendrant une fragmentation « mécanique » de l'onde de dépolarisation au sein du myocarde remanié.

L'induction expérimentale d'un IM chez le chien (Kuchar et coll., 1990) et chez le porc (Tobé et coll., 1992) provoque l'apparition de PVT (ou au moins une modification significative de toutes les variables allant dans le sens du développement des PVT). En effet, les remaniements tissulaires opérés durant l'ischémie provoquent une fragmentation et une désorganisation de l'onde de dépolarisation : les PVT en sont la traduction électrocardiographique.

En revanche, le mécanisme par lequel une molécule induit des PVT semble être différent. Dans notre étude, les 6 enregistrements avant administration des tests 2 et 3 montrent que les variables sont quasiment toutes revenues dans leurs intervalles de fluctuation respectifs après un repos de deux semaines. Seul le LAS 40 de l'animal 74744 et quelques valeurs isolées des RMS présentent des valeurs anormales. Ainsi, un retour quasi systématique des valeurs des variables ECG HR dans leurs intervalles de fluctuation indique que les PVT induits pharmacologiquement sont transitoires, et n'impliquent pas de remaniements irréversibles (comme ceux induits par un phénomène d'ischémie ou dégénératif).

La terfénadine, en bloquant les canaux potassiques, allonge la phase de repolarisation des cellules myocardiques. Cela augmente ainsi le temps durant lequel les cellules sont vulnérables et susceptibles de développer des phénomènes de post-dépolarisation précoce. Cette réactivation électrique précoce, si elle est répétée, peut être à l'origine du développement d'une torsade de pointe entretenue par un circuit de ré-entrée. Ce mécanisme

est celui communément admis pour expliquer le développement de torsades de pointes d'origine pharmacologique (Belardinelli et coll., 2004).

Usui et coll. ont effectivement montré que la terfénadine (3 mg/kg administrée sur une période de 10 minutes par voie IV) provoquait des modifications du potentiel d'action myocardique chez le chien faisant penser à des post-dépolarisations précoces, sans que les animaux ne développent de torsades de pointes (Usui et coll., 1998).

L'allongement de l'intervalle QT associé aux torsades de pointes provoquées par les molécules à visée non cardiaque n'est pas le seul facteur entrant en compte. La corrélation n'est pas toujours nette entre la survenue des deux phénomènes (allongement de QT et torsade de pointe) (Crouch et coll., 2003 ; Belardinelli et coll. 2005).

Dans le cas des agents bloquant les Ikr (cas le plus fréquent dans les arythmies induites par des molécules non cardiaques), il semble que les différents types cellulaires composant le myocarde ne possèdent pas tous la même sensibilité à l'agent bloquant. Ainsi, une hétérogénéité dans la repolarisation est observée dans les différentes zones du myocarde. Cette hétérogénéité serait à l'origine du développement d'une ré-entrée responsable de la torsade de pointe (Roden, 2004).

A partir des ces données, on peut alors supposer que l'apparition de PVT lors de l'administration de terfénadine est le reflet électrocardiographique de cette hétérogénéité et/ou des phénomènes précédemment mis en évidence par Usui et coll. (Usui et coll., 1998). Ces phénomènes ne sont cependant pas visibles sur un ECG standard, si ce n'est par un allongement de l'intervalle QT (ou QTc), dont les limites d'interprétation sont nombreuses dans l'évaluation de l'effet pro-arythmique des molécules.

IV.4- Intérêt de l'utilisation de l'électrocardiographie haute-résolution par rapport à l'utilisation de l'électrocardiographie standard dans l'évaluation du potentiel pro-arythmique des molécules en développement

Les effets de la terfénadine sur l'ECG standard n'étant pas le sujet principal de l'étude, aucune analyse statistique n'a été réalisée, mais il nous a cependant semblé intéressant de les mentionner.

Lors de l'administration de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes, des variations proches de 30 % ont été observées pour les variables QT et QTcF, entre les valeurs enregistrées sur

animal vigile et après l'administration de la terfénadine. Par ailleurs, lors des 145 minutes d'anesthésie, ces mêmes variables ont montré des augmentations de 15.7 et 19.6 % pour la durée de l'intervalle QT et la durée de l'intervalle QTcF respectivement, entre les valeurs enregistrées sur animal vigile et les valeurs enregistrées en fin d'anesthésie.

Il semble donc que, dans l'étude complémentaire, l'anesthésie seule provoque des effets sur les variables QT et QTcF. Bien que nous ne l'ayons pas montré statistiquement, cela concorde avec les études ayant montré que l'anesthésie à l'isoflurane augmentait la durée de l'intervalle QT (Riley et coll., 1988 ; Schmeling et coll., 1991).

Dans notre étude, les variations observées lors de l'anesthésie seule sont moins importantes que lorsque les animaux, en plus de l'anesthésie (nécessaire à leur contention pour l'enregistrement des ECG HR) reçoivent de la terfénadine à une dose de 3 mg/kg administrée en 20 minutes. Il semble donc que l'administration de la terfénadine, même à la dose de 3 mg/kg administrée en 20 minutes, qui paraissait cependant n'avoir que peu d'effets sur les paramètres ECG dans l'étude préliminaire, provoque des effets sur les variables QT et QTcF.

Il semble par conséquent difficile de conclure à un effet plus précoce de la terfénadine sur les variables ECG HR par rapport à l'effet sur les variables ECG, en raison notamment de l'obligation d'utiliser une anesthésie générale qui possède elle-même des effets sur les durées des intervalles QT et QTcF. Par ailleurs, lors de l'analyse des effets de l'anesthésie seule et de l'administration de terfénadine sous anesthésie générale sur les variables ECG, nous avons comparé les valeurs en fin d'anesthésie et en fin d'administration de la terfénadine avec les valeurs obtenues sur animaux vigile. Cela est différent de ce qui a été fait pour l'analyse des effets sur l'ECG HR, car pour réaliser les enregistrements ECG HR, nous n'avons pas pu nous affranchir de l'anesthésie.

CONCLUSION

Dans ce travail, la technique d'ECG HR a révelé des modifications électrocardiographiques induites par la terfénadine, que les techniques d'ECG standard n'avaient pas détecté lors du développement de la molécule au début des années 80. Nous ne pouvons cependant pas affirmer que la technique utilisée ici est meilleure que l'évaluation de l'intervalle QT. En effet, les études *a posteriori* ont montré des modifications de l'intervalle QT induites par la terfénadine. Nous avons par ailleurs observé d'importantes modifications de l'ECG lors de l'étude préliminaire, mais aussi dans l'étude principale. De plus, notre méthode implique une anesthésie générale qui possède des effets sur les variables ECG, qui ont été montré dans l'étude complémentaire, rendant difficile la comparaison de l'effet de la terfénadine sur les variables ECG et ECG HR.

La présence de PVT dans le cadre des cardiopathies, notamment ischémiques, est un facteur pronostic péjoratif pour la survenue d'arythmies malignes. Le mécanisme par lequel l'ischémie engendre des PVT a été bien étudié. En revanche, le mécanisme par lequel un agent pharmacologique induit ces phénomènes n'a pas encore été étudié à notre connaissance, et des études d'électrophysiologie plus poussées seraient nécessaires.

Quoiqu'il en soit, l'examen ECG HR est relativement simple à mettre en place et non invasif. Il serait alors tout à fait envisageable d'intégrer la recherche de PVT dans les essais cliniques sur animaux en complément de ce qui existe déjà. Cela pourrait être utile sur des molécules qui, dès les tests *in vitro,* montrent des signes de cardiotoxicité potentielle, ou dans les cas où les résultats de l'intervalle QT seraient douteux.

Cela nécessite une validation préalable de la méthode, dont ce travail et les précédents constituent les prémices. Il reste cependant beaucoup à faire en ce sens, notamment la création d'une base de donnée animale sur différentes espèces, ou encore l'étude de nombreuses autres molécules dont les mécanismes d'action cardiotoxiques sont différents de ceux de la terfénadine. Cela permettrait ainsi de disposer d'un outil supplémentaire pour assurer un maximum d'innocuité pour des molécules dont une action cardiaque n'est pas recherchée.

En médecine vétérinaire, un tel outil pourrait être utile dans le suivi des thérapeutiques cardiaques, dans l'évaluation de la cardiotoxicité de certaines molécules ou encore dans le diagnostic précoce de certaines cardiopathies. De réelles avancées en cardiologie peuvent être envisagées en associant cette technique à celles d'imagerie de plus en plus sophistiquées et en constante évolution.

(permis d’imprimer)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANONYME. Medicaments et torsades de pointes, *Mini dossier du centre national hospitalier d'Information sur le médicament*, Mai 2003, N° 2, Editions CNHIM, Kremlin Bicêtre.

BELARDINELLI L., SHRYOCK JC., WU L., SONG Y. Use of preclinical assays to predict risk of drug-induced torsades de pointes. *Heart Rythm*, 2005; **2** (suppl II): 16-22.

BENTON RE., HONIG PK., KAMANI K., CANTILENA LR., WOOSLEY RL. Grapefruit juice alters pharmacokinetics, resulting in prolongation of repolarization on the electrocardiogram. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1996; **59**: 383-388.

BERBARI EJ., LAZZARA R., SAMET P., SCHERLAG BJ. Non-invasive technique for detection of electrical activity during the PR-segment. *Circulation*, 1973; **48**: 1005-1013.

BERBARI EJ., SCHERLAG BJ., HOPE RR., LAZZARA R. Recording from the body surface of arrythmogenic ventricular activity during the S-T segment. *American Journal of Cardiology*, 1978; **41**: 697-702.

BERBARI EJ., RAJAGOPALAN CV., LANDER P. Changes in late potential measurements as a fonction of decreasing bandwidth. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology,* 1991; **2**: 503-504.

BERUL CI., MORAD M. Regulation of potassium channels by nonsedating antihistamines. *Circulation*, 1995; **91**: 2220-2225.

BOINEAU JP., COX JL. Slow ventricular activation in acute myocardial infarction. A source of re-entrant premature ventricular contractions. *Circulation*, 1973; **48**: 702-713.

BREITHARDT G., SCHWARZMAIER J., BORGGREFE M., HAERTEN K., SEIPEL L. Prognostic significance of late ventricular potentials after acute myocardial infarction. *European Heart Journal*, 1983a; **4**: 487-495.

BREITHARDT G., BORGGREFE M., QUANTIUS B., KARBENN U., SEIPEL L. Ventricular vulnerability assesed by programmed ventricular stimulation in patients with and without late potentials. *Circulation*, 1983b; **68**: 275-281.

BREITHARDT G., CAIN ME., EL-SHERIF N., FLOWERS NC., HOMBACH V., JANSE M., SIMSON MB., STEINBECK G. Standards for analysis of ventricular late potentials using high-resolution or signal-averaged electrocardiography: a statement by a Task Force Committee of the European Society of Cardiology, the American Heart Association, and the American College of Cardiology. ACC policy statement. *Journal of the American College of Cardiology*, 1991; **17**: 999-1006.

BREMBILLA PERROT B., TERRIER DE LA CHAISE A., GUGLIELMETTI V. Changes in high amplitude electrocardiogram during hospitalisation for myocardial infarction. *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux,* 1991; **84**: 1827-1831.

BUCKINGHAM TA., GREENWALT T., LINGLE A., VOLGMAN AS., KOBER P., JANOSIK D., ZBILUT JB. In anterior myocardial infarction, frequency domain is better than time domain analysis of the signal-averaged ECG for identifying patients at risk for sustained ventricular tachycardia. *Pacing and Clinical Electrophysiology,* 1992; **15**: 1681-1687.

CAIN ME., AMBOS HD., WITKOWSKI FX., SOBEL BE. Fast Fourier transform analysis of signal averaged-electrocardiograms for identification of patients prone to sustained ventricular tachycardia. *Circulation*, 1984; **69**: 711-720.

CAIN ME., AMBOS HD., MARKHAM MS., FISHER AE., SOBEL BE. Quantification of differences in frequency content of signal-averaged electrocardiograms in patients with compared to those without sustained ventricular tachycardia. *American Journal of Cardiology*, 1985; **55**: 1500-1505.

CALVERT CA. High-resolution electrocardiography. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1998a; **28**: 1429-1447.

CALVERT CA., JACOBS GJ., KRAUS M. Possible ventricular late potentials in Doberman Pinsher with occult cardiomyopathy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1998b; **213**: 235-239.

COLLET M., LE BOBINNEC G. Electrocardiographie et rythmologie canine, Editions du point vétérinaire, Maison Alfort, 1ère édition, 1993: p 95-96.

COZIC Z., TAVCIOSKI D., JOVELIK A., ROMANOVIC R. Late potentials in risk assessment of the occurence of complex ventricular arrhythmia in patients with myocardial infarction and heart failure. *Vojnosanitetski pregled,* 2004; **61**: 589-597.

CROUCH MA., LIMON L., CASSANO AT. Clinical relevance and management of drug-related QT interval prolongation. *Pharmacotherapy*, 2003; **23**: 881-908.

DENES P., SANTARELLI P., HAUSER RG., URETZ EF. Quantitative analysis of the high-frequency components of the terminal portion of the body surface QRS in normal subjects and in patients with ventricular tachycardia. *Circulation*, 1983; **67**: 1129-1138.

DENNISS AR., RICHARDS DA., CODY DV., RUSSELL PA., YOUNG AA., COOPER RJ., ROSS DC., UTHER JB. Prognostic significance of ventricular tachycardia and fibrillation induced at programmed stimulation and delayed potentials detected on the signal-averaged electrocardiograms of survivors of acute myocardial infarction. *Circulation*, 1986a; **74**: 731-745.

DENNISS AR., ROSS DL., RICHARDS DA., CODY DV., RUSSELL PA., YOUNG AA., UTHER JB. Effects of antiarrhythmic therapy on delayed potentials detected by the signal-averaged electrocardiogram in patients with ventricular tachycardia after acute myocardial infarction. *American Journal of Cardiology,* 1986b; **58**: 261-265.

DE ABAJO FJ., GARCIA RODRIGUEZ LA. Risk of ventricular arrhythmias associated with non sedating antihistamine drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1999; **47**: 307-313.

DE BAKKER JM., VAN CAPELLE FJ., JANSE MJ., WILDE AA., CORONEL R., BECKER AE., DINGEMANS KP., VAN HEMEL NM., HAUER RN. Reentry as a cause of ventricular tachycardia in patients with chronic ischemic heart disease: electrophysiologic and anatomic correlation. *Circulation*, 1988; **77**: 589-606.

DE BARBEYRAC P. Electrocardiographie Haute Résolution : mise au point et évaluation de l'effet pro-arythmique du flécaïnide chez le chien. *Thèse de Médecine Vétérinaire: Toulouse*: 2004 40702. 137 pages.

DE CHILLOU C., SADOUL N., ALIOT E. Corrélation entre les variables mesurées par l'ECG haute amplification et les résultats de la stimulation ventriculaire programmée après infarctus myocardique. *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux*, 1993; **86**: 1429-1435.

DUCIC I., KO CM., SHUBA Y., MORAD M. Comparative effects of loratadine and terfenadine on cardiac K+ channels. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1997; **30**: 42-54.

DUMOULIN M., MARTIN K., TITIER K., MOLINARD M., MOORE N. Cardiotoxicité des antihistaminiques de deuxième génération. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 2006; **46**: 392-401.

ELDAR M., LEOR J., HOD H., ROTSTEIN Z., TRUMAN S., ROTSTEIN Z., TRUMAN S., KAPLINSKY E., ABBOUD S. Effect of thrombolysis on the evolution of late potentials within 10 days of infarction. *British Heart Journal,* 1990; **63**: 273-276.

EL SHERIF N., SCHERLAG BJ., LAZZARA R., HOPE RR. Re-entrant ventricular arrhythmias in the late myocardial infarction period. 1. Patterns conduction characteristics in the infarction zone. *Circulation*, 1977a; **55**: 686-702.

EL SHERIF N., HOPE RR., SCHERLAG BJ., LAZZARA R. Re-entrant ventricular arrhythmias in the late myocardial infarction period. 2. Patterns of initiation and termination of re-entry. *Circulation*, 1977b; **55**: 702- 719.

EL SHERIF N., URSELL SN., BEKHEIT S., FONTAINE J., TURITTO G., HENKIN R., CAREF EB. Prognostic significance of the signal averaged ECG depends on the time of recording in the post infarction period. *American Heart Journal*, 1989; **118**: 256- 263.

EVRENGUL H., DURSUNOGLU D., KAYIKCIOGLU M., CAN L., TANRIVERDI H., KAFTAN A., KITIC M. Effects of a β-blocker on ventricular late potentials in patients with acute anterior myocardial infarction receiving successful thrombolytic therapy. *Japanese Heart Journal,* 2004; **45**: 11-21.

FAUCHIER JP., COSNAY P., BABUTY D., FAUCHIER L., BREUILLAC JC., CHARNIOT JC. Enregistrement des potentiels ventriculaires tardifs dans les myocardiopathies dilatées ou hypertrophiques**.** In: J. Lekieffre (ed), *Potentiels ventriculaires tardifs*. Médi'strophe Edition, Paris, 1992; 37.

FENICHEL RR., MALIK M., ANTZELEVITCH C., SANGUINETTI M., RODEN DM., PRIORI SG., RUSKIN JN., LIPICKY RJ., CANTILENA LR. Drug induced torsades de pointes and implications for drug development. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2004; **15**: 475-495.

FONTAINE G., GUIRAUDON G., FRANK R., GERBAUX A., COUSTEAU JP., BARILLON A., GAY J., CABROL C., FACQUET J. La cartographie épicardique et le traitement chirurgical par simple ventriculotomie de certaines tachycardies ventriculaires rebelles par ré-entrée. *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux*, 1975; **2**: 113-124.

FONTAINE G., FRANK R., GALLAIS HAMONNO F., ALLALI I., PHAN THUC H., GROSGOGEAT Y. Electrocardiographie des potentiels tardifs du syndrome de post-excitation. *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux,* 1978; **8**: 854-864.

FRANK R., FONTAINE G., VEDEL J., MIALET G., SOL C., GUIRAUDON G. Electrocardiologie de quatre cas de dysplasie ventriculaire droite arythmogène. *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux*, 1978; **9**: 963-972.

GARDNER PI ., URSELL PC., FENOGLIO JJ., WIT AL. Electrophysiologic and anatomic basis for fractionated electrograms recorded from healed myocardial infarcts. *Circulation*, 1985; **72**: 596-611.

GOMES JA., **MEHRA R**, **BARRECA P.**, **EL-SHERIF N.**, **HARIMAN R., HOLTZMAN R.** Quantitative analysis of the high-frequency components of the signal-averaged QRS complex in patients with acute myocardial infarction: a prospective study. *Circulation,* 1985; **72**: 105-111.

GOMES JA., WINTERS SL., STEWART D., TARGONSKI A., BARRECA P. Optimal bandpass filters for time-domain analysis of the signal-averaged electrocardiogram. *American Journal of Cardiology,* 1987a; **60**: 1290-1298.

GOMES JA., WINTERS SL., STEWART D., HOROWITZ S., MILNER M., BARRECA P. A new non-invasive index to predict sustained ventricular tachycardia and sudden death in the first year after myocardial infarction: based on signal-averaged electrocardiogram, radionuclide ejection fraction and Holter monitoring. *Journal of the American College of Cardiology*, 1987b; **10**: 349-357.

GOMES JA., WINTERS SL., MARTISON M., MACHAC J., STEWART D., TARGONSKI A. Prognostic significiance of quantitative signal-averaged variables relative to clinical variables, site of myocardial infarction, and ventricular premature beats. *Journal of the American College of Cadiology*, 1989; **13**: 377-384.

HABERL R., WEBER M., **REICHENSPURNER H., KEMKES BM., OSTERHOLZER G., ANTHUBER M., STEINBECK G.** Frequency analysis of the surface electrocardiogram for recognition of acute rejection after orthotopic cardiac transplantation in man. *Circulation,* 1987; **76**: 101-108.

HARRIS AS. Delayed development of ventricular ectopic rhythms following experimental coronary occlusion**.** *Circulation,* 1950; **1**: 1318-1328.

HAVERKAMP W., BREITHARDT G., CAMM AJ., JANSE MJ., ROSEN MR., ANTZELEVITCH C., ESCANDE D., FRANZ M., MALIK M., MOSS A., SHAH R. The potential for QT prolongation and proarrythmic by nonarrythmic drugs : clinical and regulatory implications (report on a Policy conference of the European Society of Cardiology). *European Heart Journal*, 2000; **21**: 1216-1231.

HONIG PK., WOOSLEY RL., ZAMANI K., CONNER DP., CANTILENA LR. Changes in the pharmacokinetics and electrocardiographic pharmacodynamics of terfenadine with concomitant administration of erythromycin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1992; **52**: 231-238.

HONIG PK., WORTHAM DC., ZAMANI K., CONNER DP., MULLIN JC., CANTILENA LR. Terfenadine-ketoconazol interaction. Pharmacokinetic and electrocardiographic consequences. *Journal of the American Medical Association*, 1993; **269**: 1513-1518.

JURIMA-ROMET M., CRAWFORD K., CYR T., INABA T. Terfenadine metabolism in human liver : *In vitro* inhibition by macrolide antibiotics and azole antifungals. *Drug metabolism and disposition*, 1994; **22**: 849- 857.

KANOVSKY MS., FALCONE RA., DRESDEN CA., JOSEPHSON ME., SIMSON MB. Identification of patients with ventricular tachycardia after myocardial infarction : signal-averaged electrocardiogram, Holter monitoring, and cardiac catheterization. *Circulation,* 1984; **70**: 264-270.

KINOSHITA O., FONTAINE G., ROSAS F., ELIAS J., IWA T., TONET J., LASCAULT G., FRANK R. Time and frequency-domain analyses of the signal-averaged ECG in patients with arrythmogenic right ventricular dysplasia. *Circulation*, 1995; **91**: 715-721.

KUCHAR DL., THORBURN CW., SAMMEL NL. Late potentials detected after myocardial infarction: natural history and prognostic significance. *Circulation*, 1986; **6**: 1280-1289.

KUCHAR DL., ROSENBAUM DS., RUSKIN J., GARAN H. Late potentials on the SAECG after canine myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 1990; 1**5**: 1365-1373.

KULAKOWSKI P., BASHIR Y., HEALD S., PAUL V., ANDERSON MH., GIBSON S., MALIK M., CAMM AJ. Reduction of antiarrhythmic efficacity of class I and III agents in patients with ventricular tachycardia by signal-averaged ECG analysis. *Pacing and Clinical Electrophysiology*, 1992; **15**: 2116-2121.

LINDSAY BD., MARKHAM J., SCHECHTMAN KB., AMBOS HD., CAIN ME. Identification of patients with sustained ventricular tachycardia by frequency analysis of the signal-averaged electrocardiograms despite the presence of bundle branch block**.** *Circulation*, 1988; **77**: 122-130.

LIPPENS F., SAVARD P., SHENASA M. Performance degradation of the coherent averaging technique by a molding effect. *IEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1989; **36**: 856-858.

LOGIER R. L'électrocardioscope, In : C. Drouard- Haelewyn (ed), *Méthodes d'exploration du cœur du chien et du chat*. P.M.C.A.C. Edition, Paris, 2001; 25-26.

LOMBARDI F., FINOCCHIARO ML., DALLA-VECCHIA L., RECH R., CASTELLI A., PASTINE J., CAPIELLO E. Effects of mexiletine, propafenone and flecaïnide on signal-averaged electrocardiogram. *European Heart Journal*, 1992; **13**: 517-525.

MARCUS NH., FALCONE RA., HARKEN AH., JOSEPHSON ME., SIMSON MB. Body surface late potentials: effects of endocardial resection in patients with ventricular tachycardia**.** *Circulation,* 1984; **70**: 632-637.

MC TAVISH D., GOA KL., FERRILL M. Terfenadine: an update review of its pharmacological properties ans therapeutic efficacy. *Drug*, 1990; **39**: 552-574.

MOLIN F., LACROIX D. Potentiels tardifs : mécanismes électroniques, In : J. Lekieffre (ed), *Potentiels ventriculaires tardifs*. Médi'strophe Edition, Paris, 1992; 57-71.

MONAHAN BP., FERGUSON CL., KILLEAVY ES., LLOYD BK., TROY J., CANTILENA LR. Torsades de pointes occuring in association with terfenadine use. *Journal of the American Medical Association*, 1990; **264**: 2788-2790.

NOGAMI A., IESAKA Y., AKIYAMA J., TAKAHASHI A., NITTA J., CHUN Y., AONUMA K., HIROE M., MORUMA F., HIRAOKA M. Combined use of time and frequency domain variables in signal-averaged ECG as a predictor of inducible sustained monomorphic ventricular tachycardia in myocardial infarction. *Circulation*, 1992; **86**: 780-789.

OHMURA T., CHACHIN M., TARUI S., NAGAKURA A., IARASHI T., IKEDA H., IKEGAMI K., KITAGAWA H., UCHIDA S. Effects of terfenadine, astemizole and epinastine on electrocardiogram in conscious cynomolgus monkeys. *European Journal of Pharmacology*, 1999; **378**: 169-175.

POLL DS., MARCHLINSKI FE., FALCONE RA., JOSEPHSON ME., SIMSON MB. Abnormal signal averaged electrocardiogram in patients with non ischemic congestive cardiomyopathy : relationship to sustained ventricular tachyarrhythmias. *Circulation*, 1985; **72**: 1308-1313.

PRATT C., BROWN AM., RAMPE D., MASON J., RUSSEL T., REYNOLDS R., AHLBRANDT T. Cardiovascular safety of fexofenadine HCl. *Clinical and Experimental Allergy*, 1999; **29** (suppl III): 212-216.

RICHARDS DA., **BYTH K., ROSS DL., UTHER JB.** What is the best predictor of spontaneous ventricular tachycardia and sudden death after myocardial infarction ? *Circulation,* 1991; **83**: 756-763.

RILEY DC., SCHLEKING WT., AL-WATHIQUI MH., KAMPINE JP., WARLTIER DC. Prolongation of the QT interval by volatil anesthesics in chronically instrumented dogs. *Anesthesia and Analgesia*, 1988; **67**: 741-749.

RODEN DM. Drug-induced prolongation of the QT interval, *New England Journal of Medecine*, 2004 ; **350**: 1013-1022.

ROSSI L. Potentiels tardifs et substrat histopathologique. In: J. Lekieffre (ed), *Potentiels ventriculaires tardifs*. Médi'strophe Edition, Paris, 1992; 37.

ROZANSKI JJ., **MORTARA D.**, **MYERBURG RJ., CASTELLANOS A.** Body surface detection of delayed depolarizations in patients with recurrent ventricular tachycardia and left ventricular aneurysm. *Circulation,* 1981; **63**: 1172-1178.

SAVARD P. Traitement du signal électrique, application au recueil des potentiels tardifs. In: J. Lekieffre (ed), Potentiels tardifs ventriculaires. Médi'strophe Edition, Paris, 1992; 57-71.

SCHERLAG BJ., EL-SHERIF N., HOPE RR., LAZARRA R. Characterization and localization of ventricular arrhythmias due to myocardial ischemia and infarction. *Circulation Research*, 1974; **35**: 372-383.

SCHMELING WT., WARLTIER DC., MC DONALD DJ., MADSEN KE., ATLEE JL., KAMPINE JP. Prolongation of the QT interval by enflurane, isoflurane and halotane in humans. *Anesthesia and Analgesia*, 1991; **72**: 137-144.

SEBILLE O. Enregistrement des potentiels ventriculaires tardifs chez le miniporc sain. *Thèse de Médecine Vétérinaire: Toulouse*: 1997-TOU 3, 4067. 69 pages.

SIMONS FER., SIMONS KJ. The pharmacology and use of H1-receptor-antagonist drugs. *New England Journal of Medicine* , 1994; **330**: 1663-1679.

SIMSON MB., EULER D., MICHELSON EL., FALCONE RA., SPEAR JF., MOORE EN. Detection of delayed ventricular activation on the body surface in dogs. *American Journal of Physiology*, 1981a; **241**: 363-369.

SIMSON MB. Use of signals in the terminal QRS complex to identify patients with ventricular tachycardia after myocardial infarction. *Circulation*, 1981b; **64**: 235-241.

SPIER AW., MEURS KM. Use of signal-averaged electrocardiography in the evaluation of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Boxers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2004; **225**: 1050-1055.

STEINBERG J., BIGGER T. Importance of the endpoint of noise reduction in analysis of the signal-averaged electrocardiogram. *American Journal of Cardiology*, 1989; **63**: 556-560.

SVENDSEN O. chap. 15 Toxicology, In: M.M. SWINDLE, *Swine in the laboratory: surgery, anaesthesia,imaging and experimental techniques,* Edition 2 illustrated, CRC press, 2007; 374.

SVENDSEN P. Anesthesia and basic experimental surgery of minipigs. *Pharmacology and Toxicology,* 1997; **80** (supl II): 23-26.

SWINDLE MM., SMITH AC. Comparative physiology and anatomy of the pig. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science,* 1998; **25** (supp I): 11-22.

TEJIMA T., SAKURADA H., OKAZAKI H., MOTOMIYA T., HIRAOKA M. Significance of abnormal root mean square voltages in signal averaged electrocardiogram as a reliable predictor of sustained ventricular tachycardia. *Journal of Electrocardiology*, 1998; **31**: 362-366.

TILLEY LP. Essentials of canine and feline elctrocardiography-3rd. Malvern: Lea and Febiger, 1992. Signal averaged electrocardiography, pp: 313-317.

TOBE T., DE LANGEN C., MOOK P., TIO R., BEL K., DE GRAEFF P., VAN GILST W., WESSELING H. Late potentials in a porcine model of anterior wall myocardial infarction and their relation to inducible ventricular tachycardia. *Pacing and Clinical Electrophysiology*, 1992; **15**: 1760-1771.

TURITTO G., CAREF EB., MACINA G., FONTAINE JM., URSELL SN., EL-SHERIF N. Time course of ventricular arrhythmias and the signal averaged electrocardiogram in the postinfarction period: a prospective study of correlation. *British Heart Journal,* 1988a; **60**: 17-22.

TURITTO G., FONTAINE JM., URSELL SN., CAREF EB., HENKIN R., EL SHERIF N. Value of the signal averaged electrocardiogram as a predictor of the results of pogrammed stimulation in non sustained ventricular tachycardia. *American Journal of Cardiology*, 1988b; **61**: 1272-1278.

USUI T., SUGIYAMA A., ISHIDA Y., SATOH Y., SASKI Y., HASHIMOTO K. Simultaneous assessment of the hemodynamic, cardiomechanical and electrophysiological effects of terfenadine on the in vivo canine model. *Heart Vessels*, 1998; **13**: 49-57.

VARENNE A., BLANC P., CAMOUS JP., GRANGIER L., MORAND P. Enregistrement de surface des micropotentiels anormaux post QRS : Description et fréquence dans les tachycardies ventriculaires après infarctus du myocarde. *Archives des Maladies du Cœur et des Vaisseaux,* 1986; **11**: 1571- 1579.

VAZQUEZ R., CAREF EB., TORRES F., REINA M., ESPINA A., EL-SHERIF N. Improved diagnostic value of combined time and frequency domain analysis of the signal averaged electrocardiogram after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 1999; **33**: 385-394.

VAZQUEZ R., CAREF EB., TORRES F., REINA M., GERRERO JA., EL-SHERIF N. Reproducibility of time-domain and three different frequency-domain techniques for the analysis of the signal-averaged electrocardiogram. *Journal of Electrocardiol*ogy, 2000; **33**: 99-105.

WOOSLEY RL., CHEN Y., FREIMAN JP., GILLIS RA. Mechanism of the cardiotoxic actions of terfenadine. *Journal of the American Medical Association*, 1993; **269**: 1532- 1536.

WORLEY SJ., MARK DB., SMITH WM., WOLF P., CALIFF RM., STRAUSS HC., MANWARING MG., IDEKER RE. Comparaison of time-domain and frequency-domain variables from the signal-averaged electrocardiogram : a multivariate analysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 1988; **11**: 1041-51.

YUN CH., OKERHOLM RA., GUENGERICH FP. Oxydation of the antihistaminic drug terfenadine in human liver microsomes : role of cytochrome P-450 3A(4) in *N*-dealkylation and *C*-hydroxylation. *Drug metabolism and disposition*, 1992; **21**: 403-409.

ZIMMERMAN M., ADAMEC R., CIARONI S. Reduction in the frequency of ventricular late potentials after acute myocardial infarction by early thrombolytic therapy. *American Journal of cardiology*, 1991; **7**: 697-703.

ZIMMERMAN M., DURUZ H., GUINAND O., BROCCARD O., LEVY P., LACATIS D., BLOCH A. Torsades de pointes after treatment with terfenadine and ketoconazole. *European Heart Journal*, 1992; **13**: 1002-1003.

ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Tableaux regroupant les numéros d'identification des différents miniporcs utilisés dans l'étude préliminaire (1a) et principale (1b)..... 127

Annexe 2: Rapport d'analyse microbiologique de l'élevage de provenance des animaux 128

Annexe 3 : Exemple de rapport d'analyse ECG HR..... 129

Annexe 4 : Valeurs des 4 variables d'électrocardiographie haute-résolution enregistrées sur les 8 miniporcs lors des 3 séries de prétests 130

Annexe 5 : Moyennes et intervalles de fluctuations des 4 variables d'électrocardiographie haute-résolution des 8 miniporcs calculés à partir des données des 3 séries de prétest..... 133

Annexe 6 : Valeurs des variables d'électrocardiographie haute-résolution enregistrées au cours des enregistrements avant l'administration de la terfénadine sur chaque animal pour chaque test..... 134

Annexe 7: Valeurs des variables d'électrocardiographie haute-résolution enregistrées au cours des enregistrements pendant l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes et pendant la période de récupération sur chaque animal pour chaque test 138

Annexe 8 : Valeurs de l'intervalle QRS (en milliseconde) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie..... 143

Annexe 9 : Valeurs de la fréquence cardiaque (en battements par minute) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie..... 144

Annexe 10 : Valeurs de l'intervalle QT (en millisecondes) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie 145

Annexe 11 : Valeurs de l'intervalle QTcF (en millisecondes) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie..... 146

N° de l'animal	95856	95941	95815	95848
Sexe	Mâle	Mâle	Femelle	Femelle

1a

N° de l'animal	74717	74744	74750	74752	74721	74740	74745	74754
Sexe	Mâle	Mâle	Mâle	Mâle	Femelle	Femelle	Femelle	Femelle

1b

<u>Annexe 1</u>: Tableaux regroupant les numéros d'identification des différents miniporcs utilisés dans l'étude préliminaire (1a) et principale (1b)

FELASA-Approved Health Monitoring Report

Name and address of the breeder: Ellegaard Göttingen Minipigs ApS, DK-4261 Dalmose

Date of issue: May 25th, 2006 **Unit N°:** Barrier II **Date of examination:** April, 4th.2006

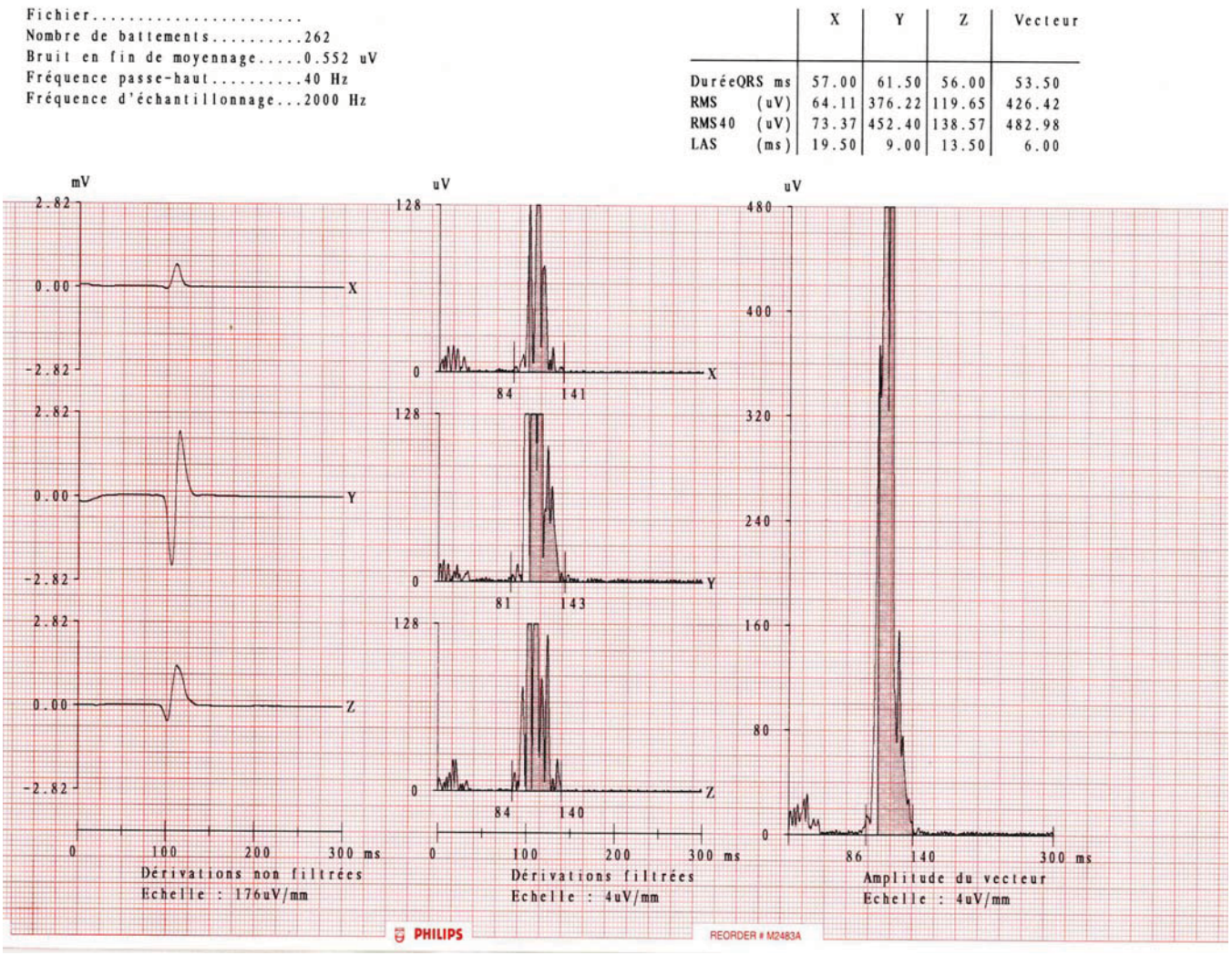
Species: Pig **Strain:** Göttingen Minipig **Rederivation:** Mar. 1992

Populated: Apr. 1998

	HISTORICAL RESULTS	CURRENT TEST RESULTS	LABORATORY	METHOD
VIRAL INFECTIONS				
Aujeszky's Disease	neg (0/120)	0/10	DFVF	ELISA
Classical Swine Fever	neg (0/150)	0/10	DFVF	ELISA
Encephalomyocarditis Virus	neg (0/150)	0/10	DFVF	IPT
Haemagglutinating Encephalomyelitis	neg (0/150)	0/10	DFVF	IPT
Porcine Epidemic Diarrhoea	neg (0/150)	0/10	DFVF	ELISA
Porcine Influenza				
H1N1	neg (0/150)	0/10	DFVF	HI
H3N2	neg (0/150)	0/10	DFVF	HI
Porcine Parvovirus	neg (0/169)	0/10	DFVF	ELISA
Porcine Reproduct. & Resp. Disease (EU type +US type	neg (0/130)	0/10	DFVF	ELISA
Porcine Reproduct. & Resp. Disease (EU type + US type)	neg (0/20)	NE	DFVF	IPT
Porcine Respiratory Coronavirus	neg (0/150)	0/10	DFVF	ELISA
Porcine Rotavirus	pos (8/20)	NE	DFVF	latex aggl.
Porcine Rotavirus	pos (62/120)	0/10	DFVF	ELISA
Transmissible Gastroenteritis	neg (0/150)	0/10	DFVF	ELISA
Porcine Circovirus type 2 (PCV2)	neg (0/60)	0/10	DFVF	IPT
BACTERIAL INFECTIONS				
Actinobacillus pleuropneumoniae				
Serotype 1, 2, 5, 6, 7, 8, 10, 12	neg (0/150)	0/10	DFVF	ELISA/CF
Bordetella bronchiseptica	neg (0/150)	0/10	DFVF	Culture
Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae	neg (0/150)	0/10	DFVF	Culture
Campylobacter spp.	pos (3/160)	0/10	DFVF	Culture
Clostridium perfringens				
Type A	pos (5/140)	0/10	DFVF	Culture
Type C	neg (0/139)	0/10	DFVF	Culture
Erysipelothrix rhusiopathiae	neg (0/149)	0/10	DFVF	Culture
Eubacterium suis	neg (0/70)	NE	DFVF	Culture
Haemophilus parasuis	neg (0/149)	0/10	DFVF	Culture
Lawsonia intracellularis	neg (0/80)	0/10	DFVF	PCR
Leptospira spp.				
L. pomona	neg (0/80)	0/10	DFVF	MAT
L. bratislava	neg (0/80)	0/10	DFVF	MAT
Listeria monocytogenes	neg (0/70)	NE	DFVF	Culture
Mycoplasma hyopneumoniae	neg (0/150)	0/10	DFVF	ELISA
P. multocida (toxin producing)	neg (0/150)	0/10	DFVF	Culture
P. haemolytica (M. haemolytica)	neg (0/109)	0/10	DFVF	Culture
P. pneumotropica	neg (0/109)	0/10	DFVF	Culture
other pasteurellae	neg (0/109)	0/10	DFVF	Culture
Salmonella spp.	neg (0/150)	0/10	DFVF	Culture
Staphylococcus hyicus	neg (0/150)	0/10	DFVF	Culture
β-haemolytic Streptococci	pos(1/150) *(Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis)*	0/10	DFVF	Culture
Streptococcus pneumoniae	neg (0/149)	0/10	DFVF	Culture
Streptococcus suis	neg (0/149)	0/10	DFVF	Culture
Yersinia enterocolitica	neg (0/150)	0/10	DFVF	Culture
spp. Associated with lesions:				
FUNGAL INFECTIONS				
Candida albicans	pos (43/110)	6/10	DFVF	Culture
Microsporum spp.	neg (0/120)	0/10	DFVF	Culture
Trichophyton spp.	neg (0/120)	0/10	DFVF	Culture
PARASITOLOGICAL INFECTIONS				
Arthropods	neg (0/140)	0/10	DFVF	Micr. Insp.
Helminths	neg (0/140)	0/10	DFVF	Flotation
Coccidiea (Eimeria, Isospora)	neg (0/140)	0/10	DFVF	Flotation
Toxoplasma gondii	neg (0/130)	0/10	DFVF	IFA

Abbreviations for laboratories:
DFVF: Danmarks Fødevare og Veterinær Forskning, (Bülowsvej 27, 1790 Kbh. V and Lindholm, 4771 Kalvehave)
Abbreviations for methods:
CF: Complement binding; ELISA: Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay; HI: Haemagglutination Inhibition; IFA: Immuno Fluorescence Assay; IPT: Immuno Peroxidase Test; Latex Aggl.: Latex Agglutination; Micr. Insp.: Microscopical Inspection; NE: Not examined in current screen; MAT: Micro Agglutination Test; PCR: Polymerase Chain Reaction.

Annexe 2: Rapport d'analyse microbiologique de l'élevage de provenance des animaux



Annexe 3 : Exemple de rapport d'analyse ECG HR

Annexe 4 : Valeurs des 4 variables d'électrocardiographie haute-résolution enregistrées sur les 8 miniporcs lors des 3 séries de prétests

QRSf: Durée totale du complexe QRS filtré (ms) ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré (µv) ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré (µv) ; **LAS 40**: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts (ms)

Miniporc		QRSf	RMS	RMS40	LAS40
74744	pré-test1	53.5	466	526	9
		54	461	522	9
		55.5	451	495	10.5
	pré-test2	60	447	478	2.5
		60.5	448	460	3.5
		60	449	465	3
	pré-test3	63	461	466	3.5
		61	465	470	3
		62	456	500	2
74717	pré-test1	59	327	336	11.5
		60	320	328	11.5
		59	319	328	11.5
	pré-test2	53	399	440	10
		53	388	429	9.5
		54	368	407	10
	pré-test3	60	303	313	12.5
		61	294	299	13.5
		61.5	290	291	14
74752	pré-test1	53	558	336	11.5
		52.5	550	328	11.5
		52	544	328	11.5
	pré-test2	52	546	440	10
		52	539	429	9.5
		52.5	542	407	10
	pré-test3	53	498	566	9.5
		52	489	553	9.5
		51	479	537	9.5
74750	pré-test1	59	356	419	10
		60	356	418	10.5
		60.5	354	419	10
	pré-test2	60	375	416	12.5
		59.5	369	409	12
		58.5	372	418	11.5
	pré-test3	57.5	389	443	10.5
		58.5	391	442	11
		58	395	447	10.5

Miniporc		QRSf	RMS	RMS40	LAS40
74745	pré-test1	57	452	447	12.5
		58	445	467	12
		58	436	451	12
	pré-test2	55	498	569	10
		54.5	496	559	10.5
		54.5	491	539	11
	pré-test3	54.5	508	572	10.5
		55	506	578	9.5
		53.5	505	575	9
74754	pré-test1	64	392	234	17
		63.5	388	287	15.5
		63.5	388	287	15.5
	pré-test2	61.5	379	308	14.5
		60.5	377	314	14
		60	375	301	14.5
	pré-test3	63	356	295	13.5
		63	364	289	14
		62.5	368	307	13.5
74740	pré-test1	58	313	347	15.5
		58	302	343	14.5
		57	296	342	13
	pré-test2	54.5	333	361	13.5
		54	331	367	12.5
		53.5	325	367	12
	pré-test3	54.5	361	395	12.5
		55	354	381	13.5
		56	323	349	14.5
74721	pré-test1	53	530	598	15
		52.5	527	595	14
		53	522	589	14.5
	pré-test2	52	549	622	13
		49	555	614	12
		51	538	602	13.5
	pré-test3	54	544	611	17
		53	544	613	16
		54.5	531	604	16.5

Annexe 5 : Moyennes et intervalles de fluctuations des 4 variables d'électrocardiographie haute-résolution des 8 miniporcs calculés à partir des données des 3 séries de prétest

LAS 40: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts (ms) ; **QRSf**: Durée totale du complexe QRS filtré (ms) ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré (µv) ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré (µv)

Miniporc	Variable	Moyenne	Limite inférieure	Limite supérieure
74717	LAS 40	11.56	6.57	16.54
	QRSf	57.83	51.43	64.24
	RMS	334.29	261.70	406.88
	RMS 40	352.28	210.51	494.05
74721	LAS 40	14.61	9.63	19.60
	QRSf	52.44	46.04	58.85
	RMS	537.72	465.13	610.31
	RMS 40	605.46	463.69	747.23
74740	LAS 40	13.39	8.40	18.38
	QRSf	55.50	49.09	61.91
	RMS	332.08	259.49	404.67
	RMS 40	367.64	225.87	509.41
74744	LAS 40	5.11	0.13	10.10
	QRSf	58.83	52.43	65.24
	RMS	456.04	383.45	528.63
	RMS 40	486.72	344.95	628.49
74745	LAS 40	10.78	5.79	15.76
	QRSf	55.56	49.15	61.96
	RMS	481.83	409.25	554.42
	RMS 40	528.57	386.70	670.24
74750	LAS 40	10.94	5.96	15.93
	QRSf	59.06	52.65	65.46
	RMS	372.91	300.32	445.50
	RMS 40	425.73	283.96	567.50
74752	LAS 40	10.28	5.29	15.26
	QRSf	52.22	45.81	58.63
	RMS	527.33	454.75	599.92
	RMS 40	435.94	294.16	577.71
74754	LAS 40	14.67	9.68	19.65
	QRSf	62.39	55.98	68.80
	RMS	376.32	303.74	448.91
	RMS 40	291.18	149.41	432.94

Annexe 6 : Valeurs des variables d'électrocardiographie haute-résolution enregistrées au cours des enregistrements avant l'administration de la terfénadine sur chaque animal pour chaque test

LAS 40: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts ; **QRSf**: Durée totale du complexe QRS filtré ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré ; **T1 à T6**: N° d'enregistrement ; *16* : valeur supérieure à la valeur haute de l'intervalle de fluctuation de la variable pour l'animal considéré ; *376* : valeur inférieure à la valeur basse de l'intervalle de fluctuation de la variable pour l'animal considéré

			N° d'enregistrement					
Miniporc	Test	Variable	T1	T2	T3	T4	T5	T6
74717	1	LAS 40 (ms)	12.5	13.5	14	.	.	.
		QRSf (ms)	60	61	61.5	.	.	.
		RMS (µv)	302	294	290	.	.	.
		RMS 40 (µv)	313	299	291	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	12.5	13.5	12	13.5	12.5	14
		QRSf (ms)	59	59.5	58	60	58.5	60.5
		RMS (µv)	367	373	366	354	357	349
		RMS 40 (µv)	391	381	394	362	380	352
	3	LAS 40 (ms)	13	13.5	14	13.5	14	14.5
		QRSf (ms)	59	60.5	61	60.5	61	62.5
		RMS (µv)	391	368	358	352	346	338
		RMS 40 (µv)	400	375	357	355	346	334
74721	1	LAS 40 (ms)	17	16	16.5	.	.	.
		QRSf (ms)	54	53	54.5	.	.	.
		RMS (µv)	544	544	531	.	.	.
		RMS 40 (µv)	611	613	604	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	16.5	15.5	16	15.5	15.5	16
		QRSf (ms)	55.5	54.5	54.5	54	55	55
		RMS (µv)	*450*	481	489	494	492	490
		RMS 40 (µv)	518	553	557	563	566	559
	3	LAS 40 (ms)	15	14	14.5	15	14.5	16
		QRSf (ms)	52.5	51.5	52	52	53	54.5
		RMS (µv)	521	497	482	475	470	*461*
		RMS 40 (µv)	590	560	544	536	536	526
74740	1	LAS 40 (ms)	12.5	13.5	14.5	.	.	.
		QRSf (ms)	54.5	55	56	.	.	.
		RMS (µv)	361	354	323	.	.	.
		RMS 40 (µv)	395	381	349	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	14	12.5	14	15	15	13.5
		QRSf (ms)	53.5	51.5	53.5	55	55	53
		RMS (µv)	332	328	317	304	295	297
		RMS 40 (µv)	362	364	345	324	318	329
	3	LAS 40 (ms)	14	14	14.5	14	14	13.5
		QRSf (ms)	55.5	55.5	56.5	56	55.5	55
		RMS (µv)	320	307	289	286	275	268
		RMS 40 (µv)	337	326	304	304	294	289

			N° d'enregistrement					
Miniporc	Test	Variable	T1	T2	T3	T4	T5	T6
74744	1	LAS 40 (ms)	3.5	3	2	.	.	.
		QRSf (ms)	63	61	62	.	.	.
		RMS (µv)	461	465	456	.	.	.
		RMS 40 (µv)	466	470	500	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	***11***	***11***	***13***	***12***	***11.5***	***11***
		QRSf (ms)	56	60.5	60.5	59.5	59	58.5
		RMS (µv)	***534***	464	457	458	453	453
		RMS 40 (µv)	558	525	440	491	499	508
	3	LAS 40 (ms)	***11.5***	***11***	10	***12.5***	***10.5***	***10.5***
		QRSf (ms)	57	57	56	58.5	57	56.5
		RMS (µv)	***540***	***531***	527	517	520	520
		RMS 40 (µv)	570	573	588	503	569	574
74745	1	LAS 40 (ms)	10.5	9.5	9	.	.	.
		QRSf (ms)	54.5	55	53.5	.	.	.
		RMS (µv)	508	506	505	.	.	.
		RMS 40 (µv)	572	578	575	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	***16***	15.5	***16***	15.5	***16***	15
		QRSf (ms)	57	57	57.5	56.5	57.5	56.5
		RMS (µv)	457	450	445	443	432	429
		RMS 40 (µv)	408	405	*376*	390	*379*	391
	3	LAS 40 (ms)	11.5	11	11	10.5	10	13
		QRSf (ms)	56.5	55	55	55	55	57
		RMS (µv)	472	473	465	462	459	455
		RMS 40 (µv)	510	513	509	511	513	440
74750	1	LAS 40 (ms)	10.5	11	10.5	.	.	.
		QRSf (ms)	57.5	58.5	58	.	.	.
		RMS (µv)	389	391	395	.	.	.
		RMS 40 (µv)	443	442	447	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	11	11.5	10.5	12.5	10.5	10.5
		QRSf (ms)	57.5	59	58.5	60	58.5	58.5
		RMS (µv)	422	423	426	423	425	424
		RMS 40 (µv)	474	464	481	431	478	476
	3	LAS 40 (ms)	14.5	13	13.5	13	14	13
		QRSf (ms)	62	61.5	64	62	63	64.5
		RMS (µv)	378	382	378	384	379	373
		RMS 40 (µv)	378	391	380	386	370	386

			N° d'enregistrement					
Miniporc	Test	Variable	T1	T2	T3	T4	T5	T6
74752	1	LAS 40 (ms)	9.5	9.5	9.5	.	.	.
		QRSf (ms)	53	52	51	.	.	.
		RMS (µv)	498	489	479	.	.	.
		RMS 40 (µv)	566	553	537	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	11	12	10	11.5	12	11.5
		QRSf (ms)	54.5	54.5	52	54.5	55	54.5
		RMS (µv)	*448*	*447*	*450*	*437*	*430*	*429*
		RMS 40 (µv)	508	505	505	496	489	486
	3	LAS 40 (ms)	***15.5***	14.5	14.5	14.5	15	15
		QRSf (ms)	52	52	50.5	51	52.5	52
		RMS (µv)	*364*	*355*	*353*	*349*	*341*	*332*
		RMS 40 (µv)	407	398	392	388	382	370
74754	1	LAS 40 (ms)	13.5	14	13.5	.	.	.
		QRSf (ms)	63	63	62.5	.	.	.
		RMS (µv)	356	364	368	.	.	.
		RMS 40 (µv)	295	289	307	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	15	15	15.5	15.5	16	18.5
		QRSf (ms)	63.5	63.5	65	65	66	65
		RMS (µv)	332	321	311	308	*303*	304
		RMS 40 (µv)	260	230	206	213	191	203
	3	LAS 40 (ms)	15	16	17	17	16.5	17.5
		QRSf (ms)	62.5	61.5	63.5	63.5	64	63.5
		RMS (µv)	314	313	305	304	304	304
		RMS 40 (µv)	256	241	211	226	230	205

Annexe 7: Valeurs des variables d'électrocardiographie haute-résolution enregistrées au cours des enregistrements pendant l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de terfénadine en 20 minutes et pendant la période de récupération sur chaque animal pour chaque test

LAS 40: Durée de la portion terminale du signal dont l'amplitude est inférieure à 40 microvolts; **QRSf**: Durée totale du complexe QRS filtré ; **RMS**: Amplitude quadratique moyenne de l'ensemble du complexe QRS filtré ; **RMS 40**: Amplitude quadratique moyenne des 40 dernières millisecondes du complexe QRS filtré ; **T7 à T20**: Différents temps d'enregistrement ; *17,5* : Valeur supérieure à la valeur haute de l'intervalle de fluctuation de la variable pour l'animal considéré ; *225* : Valeur inférieure à la valeur basse de l'intervalle de fluctuation de la variable pour l'animal considéré

			N° d'enregistrement													
Miniporc	Test	Variable	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
74717	1	LAS 40 (ms)	14	16	***17.5***	***19***	***20***	***20.5***	***20***	***23.5***	***21***	***20.5***	***21***	.	.	.
		QRSf (ms)	61.5	***68.5***	***68***	***74***	***74.5***	***76.5***	***76***	***79.5***	***77.5***	***76.5***	***77.5***	.	.	.
		RMS (µv)	284	*225*	*200*	*171*	*140*	*128*	*130*	*123*	*129*	*132*	*131*	.	.	.
		RMS 40 (µv)	278	227	*189*	*139*	*96*	*91*	*102*	*53*	*90*	*99*	*92*	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	13.5	15.5	***17***	***21***	***19***	***20.5***	***20***	***19.5***	***21.5***	***19***	.	.	.	.
		QRSf (ms)	60.5	63.5	***66.5***	***73.5***	***73***	***75.5***	***75***	***73***	***75***	***72.5***	.	.	.	.
		RMS (µv)	338	285	*242*	*183*	*166*	*151*	*155*	*161*	*169*	*175*	.	.	.	.
		RMS 40 (µv)	343	284	238	*90*	*135*	*103*	*116*	*135*	*97*	*147*	.	.	.	.
	3	LAS 40 (ms)	14.5	15.5	*17.5*	*18.5*	*20*	*19.5*	*21*	*20.5*	*19*	*20.5*	*20.5*	.	.	.
		QRSf (ms)	62.5	59	*68.5*	*71*	*74.5*	*77.5*	*77*	*74*	*73.5*	*75.5*	*75.5*	.	.	.
		RMS (µv)	321	296	*230*	*198*	*160*	*153*	*159*	*168*	*170*	*173*	*176*	.	.	.
		RMS 40 (µv)	315	277	*191*	*133*	*74*	*74*	*52*	*63*	*104*	*65*	*67*	.	.	.
74721	1	LAS 40 (ms)	16	15	15	17	17	18	16.5	.	.	.	.	.	.	.
		QRSf (ms)	55.5	54	54.5	57.5	57.5	57.5	56	.	.	.	.	.	.	.
		RMS (µv)	521	495	*456*	*425*	*414*	*408*	*414*	.	.	.	.	.	.	.
		RMS 40 (µv)	598	565	521	486	475	*458*	477	.	.	.	.	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	16	16	17	18.5	18.5	19	***20***	18.5	19	***20.5***	17.5	19.5	.	.
		QRSf (ms)	55	55.5	***59***	***61.5***	***61***	***62.5***	***63.5***	***62***	***63.5***	***66***	***62.5***	***65***	.	.
		RMS (µv)	487	*451*	*392*	*366*	*352*	*335*	*342*	*347*	*340*	*334*	*344*	*337*	.	.
		RMS 40 (µv)	553	516	*434*	*367*	*377*	*351*	*330*	*358*	*331*	*320*	*356*	*320*	.	.
	3	LAS 40 (ms)	16	14	16	18	17	***21.5***	***20.5***	18	***20.5***	***21.5***	***21***	.	.	.
		QRSf (ms)	55	51.5	57	***59.5***	***63***	***64.5***	***64***	***62.5***	***65***	***66.5***	***64.5***	.	.	.
		RMS (µv)	*445*	*438*	*379*	*339*	*306*	*298*	*302*	*311*	*306*	*303*	*309*	.	.	.
		RMS 40 (µv)	506	490	*434*	*355*	*327*	*283*	*290*	*345*	*301*	*288*	*293*	.	.	.

			N° d'enregistrement													
Miniporc	Test	Variable	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
74740	1	LAS 40 (ms)	16.5	17.5	18	28	31	32.5	32	33	35	32	30	31	30.5	29.5
		QRSf (ms)	59.5	62	66	76.5	78	78.5	78	80	81.5	82	80	81	80.5	77.5
		RMS (µv)	255	218	180	133	118	115	114	112	115	120	122	121	123	128
		RMS 40 (µv)	262	217	178	47	46	37	38	34	32	33	33	33	32	38
	2	LAS 40 (ms)	15.5	15.5	21.5	22.5	26	27.5	25	22	25.5	23	22.5	.	.	.
		QRSf (ms)	55.5	57	65.5	68.5	72.5	72	68.5	67.5	71	68.5	70.5	.	.	.
		RMS (µv)	291	249	191	152	131	134	140	140	141	146	145	.	.	.
		RMS 40 (µv)	307	261	156	105	95	93	111	114	75	102	101	.	.	.
	3	LAS 40 (ms)	16	16.5	21.5	22.5	25	24	27	25	27.5	24.5	24	.	.	.
		QRSf (ms)	57.5	60	67.5	69.5	71.5	70.5	73.5	69.5	72.5	69.5	70	.	.	.
		RMS (µv)	253	213	169	133	110	117	113	117	120	122	122	.	.	.
		RMS 40 (µv)	268	221	144	93	90	110	90	105	72	105	104	.	.	.
74744	1	LAS 40 (ms)	3	4.5	21.5	28	27.5	28	28.5	26.5	29.5	.	.	.	.	.
		QRSf (ms)	61	64.5	64	77.5	73.5	75	77	74.5	74.5	.	.	.	.	.
		RMS (µv)	468	420	344	279	257	257	261	269	273	.	.	.	.	.
		RMS 40 (µv)	451	371	123	43	40	38	37	44	36	.	.	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	12.5	24.5	28	32.5	29.5	29.5	29.5	30.5	29	29	26	27.5	.	.
		QRSf (ms)	60	58.5	64	70.5	71.5	72	70	71.5	69.5	69.5	68.5	67.5	.	.
		RMS (µv)	436	383	316	264	234	230	240	247	266	270	275	282	.	.
		RMS 40 (µv)	446	259	68	37	33	32	32	32	37	36	45	44	.	.
	3	LAS 40 (ms)	11	15.5	27	23	26.5	27.5	27	27	26.5	26	25	.	.	.
		QRSf (ms)	57.5	62.5	67	71.5	76	77	77.5	78	77	76	74	.	.	.
		RMS (µv)	500	431	356	292	247	238	247	258	268	278	291	.	.	.
		RMS 40 (µv)	542	391	163	57	37	34	31	32	36	40	50	.	.	.

			N° d'enregistrement														
Miniporc	Test	Variable	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
74745	1	LAS 40 (ms)	11.5	15.5	18	16.5	17.5	18	17.5	17.5	17.5	18	17.5	16.5	.	.
		QRSf (ms)	54.5	59.5	66.5	67.5	69.5	69	70	69	69	69.5	70	67	.	.
		RMS (µv)	490	437	374	330	300	286	285	286	288	290	291	300	.	.
		RMS 40 (µv)	520	381	181	219	130	92	115	122	115	95	98	167	.	.
	2	LAS 40 (ms)	16	16	17.5	24.5	23	23	24	23	23	23	23	.	.	.
		QRSf (ms)	58	60.5	68.5	76.5	75	76	77.5	76	74.5	77	76.5	.	.	.
		RMS (µv)	428	358	303	261	244	232	227	232	235	231	232	.	.	.
		RMS 40 (µv)	365	269	158	41	37	36	35	35	35	35	35	.	.	.
	3	LAS 40 (ms)	15.5	16	18.5	17.5	23	23.5	23.5	22.5	23.5	22	22	.	.	.
		QRSf (ms)	61.5	61	69	70.5	76.5	75.5	77.5	75.5	77	75	74.5	.	.	.
		RMS (µv)	436	392	315	270	237	229	227	230	230	233	233	.	.	.
		RMS 40 (µv)	389	317	103	102	36	36	36	36	37	37	37	.	.	.
74750	1	LAS 40 (ms)	12.5	12.5	15.5	16.5	17	17	18	18.5	18	17	18.5	19	17.5	.
		QRSf (ms)	61	63	68.5	71	72	72.5	74.5	76	75.5	74.5	78	77	75.5	.
		RMS (µv)	375	332	294	255	238	232	230	229	229	231	224	225	228	.
		RMS 40 (µv)	390	328	274	228	209	208	175	155	164	199	140	115	169	.
	2	LAS 40 (ms)	11.5	12.5	17.5	16.5	15.5	17.5	16.5	18	18.5	16.5	16.5	.	.	.
		QRSf (ms)	62	62	69.5	69.5	70.5	75.5	73	75	76	74.5	72.5	.	.	.
		RMS (µv)	403	380	316	294	267	210	221	225	233	241	251	.	.	.
		RMS 40 (µv)	439	383	237	245	240	140	179	124	123	200	213	.	.	.
	3	LAS 40 (ms)	14.5	14.5	17	16.5	16.5	16	16.5	16	17.5	17.5	17.5	.	.	.
		QRSf (ms)	63.5	65.5	69.5	74.5	75.5	76	76.5	73.5	75.5	75	74.5	.	.	.
		RMS (µv)	368	326	284	233	190	201	210	222	217	219	222	.	.	.
		RMS 40 (µv)	345	308	239	192	147	179	169	202	138	153	161	.	.	.

			N° d'enregistrement														
Miniporc	Test	Variable	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20
74752	1	LAS 40 (ms)	8	11.5	14	***16***	***17***	***17***	***18***	***18***	***17.5***	***19***	***18.5***	.	.	.
		QRSf (ms)	53	56	58.5	***63***	***64***	***62.5***	***65.5***	***65***	***63.5***	***65***	***65***	.	.	.
		RMS (µv)	*431*	*378*	*334*	*287*	*246*	*237*	*227*	*227*	*230*	*230*	*229*	.	.	.
		RMS 40 (µv)	490	412	334	*277*	*231*	*230*	*215*	*216*	*224*	*214*	*217*	.	.	.
	2	LAS 40 (ms)	11	13	***16.5***	***16.5***	***17***	***17.5***	***18***	***18.5***	***18***	***18.5***	***18***	.	.	.
		QRSf (ms)	53.5	55	58	***62***	***61.5***	***64***	***63.5***	***62.5***	***64.5***	***64***	***64.5***	.	.	.
		RMS (µv)	*433*	*407*	*327*	*287*	*269*	*254*	*252*	*257*	*252*	*255*	*255*	.	.	.
		RMS 40 (µv)	488	457	355	295	*268*	*252*	*242*	*244*	*254*	*242*	*250*	.	.	.
	3	LAS 40 (ms)	15	***15.5***	***16***	***16.5***	***20***	***20***	***20***	***20***	***20***	***20.5***	***19***	.	.	.
		QRSf (ms)	51.5	54	57.5	***60***	***65***	***65.5***	***65***	***65***	***67***	***66.5***	***65***	.	.	.
		RMS (µv)	*329*	*297*	*250*	*204*	*172*	*167*	*166*	*168*	*165*	*170*	*171*	.	.	.
		RMS 40 (µv)	364	333	*258*	*198*	*161*	*156*	*158*	*158*	*158*	*159*	*165*	.	.	.
74754	1	LAS 40 (ms)	14.5	15.5	***23.5***	***23.5***	***24.5***	***24.5***	***25***	***23.5***	***24.5***	***23***	***25.5***	***25***	.	.
		QRSf (ms)	62.5	64.5	***72.5***	***74.5***	***74.5***	***76.5***	***77***	***76***	***74.5***	***73.5***	***77.5***	***77***	.	.
		RMS (µv)	376	333	*235*	*214*	*200*	*187*	*195*	*202*	*208*	*210*	*207*	*208*	.	.
		RMS 40 (µv)	288	232	*54*	*47*	*40*	*37*	*37*	*44*	*43*	*49*	*38*	*40*	.	.
	2	LAS 40 (ms)	18	***23***	***24***	***25.5***	***28***	***28.5***	***29***	***29.5***	***29***	***27.5***	***27***	***29***	.	.
		QRSf (ms)	64.5	***69.5***	***73***	***78.5***	***82***	***80.5***	***82***	***82.5***	***81.5***	***80.5***	***81***	***82.5***	.	.
		RMS (µv)	*302*	*261*	*227*	*185*	*159*	*159*	*161*	*162*	*165*	*168*	*170*	*171*	.	.
		RMS 40 (µv)	216	*57*	*41*	*31*	*29*	*28*	*27*	*26*	*27*	*29*	*29*	*27*	.	.
	3	LAS 40 (ms)	17	18.5	***23.5***	***26***	***28***	***27***	***27***	***26***	***26***	***26.5***	***26.5***	.	.	.
		QRSf (ms)	64	67	***72.5***	***76.5***	***80.5***	***79***	***78***	***76.5***	***77***	***77***	***77.5***	.	.	.
		RMS 40 (µv)	*222*	*144*	*45*	*34*	*30*	*34*	*30*	*34*	*32*	*31*	*30*			
		RMS (µv)	*296*	*255*	*203*	*168*	*150*	*153*	*167*	*171*	*173*	*177*	*179*	.	.	.

	Miniporc							
Temps d'enregistrement	**74717**	**74721**	**74740**	**74744**	**74745**	**74750**	**74752**	**74754**
vigile	57	49	57	54	51	54	49	50
15'	53	44	54	44	57	53	54	55
25'	54	48	58	44	49	53	52	48
35'	53	44	57	45	52	53	52	50
45'	52	47	56	45	51	54	51	53
55'	51	45	52	44	54	54	52	51
65'	51	44	55	44	57	54	52	54
75'	51	44	57		51	55	52	54
85'	49	45	58	48	51	54	52	54
95'	56	45	50	48	51	54	54	54
105'	56	45	56	46	52	55	51	55
115'	56	45	56	45	51	58	52	55
125'	56	45	57	46	57	58	52	55
135'	58	45	54	50	55	59	50	55
145'	56	45	58	50	52	59	47	55

Annexe 8 : Valeurs de l'intervalle QRS (en milliseconde) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie

15' à 145' : le temps indiqué correspond au temps post induction de l'anesthésie, en minutes
Un problème technique nous a empêché d'obtenir un enregistrement sur l'animal 74744 au temps 75 minutes post induction.

	Miniporc							
Temps d'enregistrement	**74717**	**74721**	**74740**	**74744**	**74745**	**74750**	**74752**	**74754**
vigile	82	76	97	69	77	118	96	102
15'	172	100	203	161	141	153	184	149
25'	158	121	191	156	126	142	155	143
35'	142	110	170	151	118	135	149	135
45'	133	111	163	143	110	130	138	128
55'	125	106	156	128	102	126	139	125
65'	118	103	151	124	96	123	133	123
75'	112	100	141		95	121	123	120
85'	107	92	132	110	90	120	121	116
95'	104	95	121	109	89	120	120	114
105'	103	93	113	109	89	117	123	112
115'	100	88	107	108	97	114	119	111
125'	97	83	105	109	92	109	113	110
135'	98	87	106	110	93	110	122	108
145'	97	87	101	109	93	105	116	107

Annexe 9 : Valeurs de la fréquence cardiaque (en battements par minute) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie

15' à 145' : le temps indiqué correspond au temps post induction de l'anesthésie, en minutes
Un problème technique nous a empêché d'obtenir un enregistrement sur l'animal 74744 au temps 75 minutes post induction.

	Miniporc							
Temps d'enregistrement	**74717**	**74721**	**74740**	**74744**	**74745**	**74750**	**74752**	**74754**
vigile	375	351	324	387	363	273	284	326
15'	267	327	223	268	287	273	228	270
25'	273	293	239	273	300	289	266	264
35'	288	311	264	284	324	301	275	272
45'	300	310	273	303	331	311	279	300
55'	314	313	276	322	345	318	280	302
65'	319	320	285	332	355	322	289	317
75'	324	325	295		364	324	301	327
85'	334	338	304	353	375	315	306	337
95'	345	335	312	360	387	322	315	345
105'	347	340	336	365	387	332	310	351
115'	354	349	350	370	379	340	315	355
125'	364	356	353	368	387	344	321	362
135'	366	353	357	357	388	347	316	370
145'	371	356	387	367	390	360	328	375

Annexe 10 : Valeurs de l'intervalle QT (en millisecondes) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie

15' à 145' : le temps indiqué correspond au temps post induction de l'anesthésie, en minutes
Un problème technique nous a empêché d'obtenir un enregistrement sur l'animal 74744 au temps 75 minutes post induction

	Miniporc							
Temps d'enregistrement	**74717**	**74721**	**74740**	**74744**	**74745**	**74750**	**74752**	**74754**
vigile	416	351	381	407	395	343	334	390
15'	380	387	335	372	381	373	331	365
25'	376	370	352	376	385	385	365	352
35'	384	381	373	386	405	394	374	356
45'	390	380	381	405	405	402	369	386
55'	401	379	379	415	411	407	370	385
65'	400	384	388	423	416	409	377	403
75'	399	387	391		423	410	383	412
85'	405	389	396	432	430	397	386	420
95'	413	391	394	439	441	405	397	427
105'	416	393	416	445	442	415	394	432
115'	420	397	424	451	444	421	395	436
125'	428	398	425	448	448	424	396	443
135'	430	399	431	436	449	425	400	450
145'	435	402	461	447	451	433	409	455

Annexe 11 : Valeurs de l'intervalle QTcF (en millisecondes) des 8 miniporcs relevées sur animal vigile et toutes les 10 minutes durant les 145 minutes d'anesthésie à l'isoflurane, à partir du temps 15 minutes après l'induction de l'anesthésie

15' à 145' : le temps indiqué correspond au temps post induction de l'anesthésie, en minutes
Un problème technique nous a empêché d'obtenir un enregistrement sur l'animal 74744 au temps 75 minutes post induction